

Aus der Klinik für Anästhesiologie
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Der Einfluss von Lidocain auf ein durch LPS ausgelöstes ARDS im Großtiermodell

Inauguraldissertation
Zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin

der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
vorgelegt von

Victoria Albertsmeier

aus Mainz

Heidelberg, 2024

Wissenschaftlicher Vorstand: Univ.-Prof. Dr. Hansjörg Schild

1. Gutachter: PD Dr. med. Dipl. Biol. Alexander Tobias Ziebart, DESA

2. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Peer Wolfgang Kämmerer

Tag der Promotion: 26. März 2025

Widmung:

Für meinen Ehemann und unseren wundervollen Sohn

Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
%	Prozent
Abb.	Abbildung
ADAM17	Metalloprotease A-Desintegrin und Metalloprotease 17
AF	Atemfrequenz
AFC	alveolar fluid clearance (engl.)
ALI	acute lung injury (lat.)
Aqua dest.	Aqua destillata (lat.)
ARDS	acute respiratory distress syndrome (engl.)
Art.	Arteria (lat.)
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
BE	Base Excess (engl.)
BGA	Blutgasanalyse
BLH	baselinehealthy = Ausgangszustand vor Intervention
Bpm	beats per minute (engl.)
bzw.	beziehungsweise
cDNA	komplementäre Desoxyribonukleinsäure
ca.	circa
cm	Zentimeter
cmH ₂ O	Zentimeter Wassersäule
DAD Score	diffuse alveolar damage score (engl.)
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ELWI	extravaskulärer Lungenwasserindex
engl.	englisch
ENaC	epitheliale Natriumkanäle
et al.	et alii/et aliae (und andere)
etCO ₂	expiratorisches CO ₂
FiO ₂	fraction of inspired oxygen (engl.)
FR	French (Größeneinheit der Schleusen)
FRC	funktionelle Residualkapazität
g	Gramm
GEDI	global end-diastolic volume index (engl.)
ggf.	gegebenenfalls

gp130	Glykoprotein 130
h	hora (lat.)
Hb	Hämoglobin
HE-Färbung	Hämatoxylin/Eosin Färbung
HFNO	high flow nasal oxygen
Hkt	Hämatokrit
HR	heart rate (engl.)
HZV	Herzzeitvolumen
ICR	Interkostalraum
I.E.	internationale Einheiten
IL-6	Interleukin-6
IL-6R	Interleukin-6 Rezeptoren
i.m.	intramuskulär
IRF3	interferon regulated transcription factor 3 (engl.)
i.v.	intravenös
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
LA	left atrium (engl.)
LPS	Lipopolysaccharid
LR	Lauftrate
LV	left ventrikel (engl.)
MAD	mittlerer arterieller Druck
MAP	mean arterial pressure (engl.)
MCH	mean corpuscular hemoglobin (engl.)
MCHC	mean corpuscular hemoglobin concentration (engl.)
MCV	mean corpuscular volume (engl.)
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
mg	Milligramm
mg/kg	Milligramm pro Kilogramm
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmHG	Millimeter Quecksilbersäule
mmol	Millimolar

nan	Not a Number (engl.)
NF- κ B	nuclear-factor ‚kappa light chain enhancer‘ of activated B-cells
NIV	nicht-invasive Ventilation
nm	Nanometer
p	p-Wert, statistischer Signifikanzwert
PA	Pulmonalarterie
paCO ₂	Kohlendioxidpartialdruck
paO ₂	Sauerstoffpartialdruck
PBS	Phosphate Buffered Saline
PCR	Polymerase chain reaction/ Polymerasekettenreaktion
PEEP	Positive End Expiratory Pressure (engl.)
p.i.	per inhalationem
PiCCO	Pulse Contour Cardiac Output (engl.)
PPIA	Peptidylprolyl Isomerase A
RA	right atrium (engl.)
RNA	Ribonukleinsäure
RT-PCR	realtime PCR
RV	right ventrikel (engl.)
saO ₂	arterielle Sauerstoffsättigung
SD	standard deviation (engl.)
sek.	Sekunde
sIL-6R	löslicher Interleukin-6 Rezeptor
SIRS	systemic inflammatory response syndrom (engl.)
TNF- α	Tumornekrosefaktor alpha
u.a.	unter anderem
v.a.	vor allem
z.B.	zum Beispiel
ZVD	zentraler Venendruck
ZVK	zentraler Venenkatheter

Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung 1: Pathogenese des ARDS.....</i>	<i>18</i>
<i>Abbildung 2: Der Vergleich einer gesunden Alveole und einer geschädigten Alveole durch ein ARDS.....</i>	<i>19</i>
<i>Abbildung 3: Struktur Lipopolysaccharid eines Gram negativen Bakteriums.....</i>	<i>25</i>
<i>Abbildung 4: Interleukin 6 Rezeptorbindung und Signalkaskade</i>	<i>27</i>
<i>Abbildung 5: Der Signalweg von Tumornekrosefaktor-alpha</i>	<i>29</i>
<i>Abbildung 6: schematische Skizze des zeitlichen Ablaufs des Versuchs</i>	<i>35</i>
<i>Abbildung 7: PiCCO System</i>	<i>40</i>
<i>Abbildung 8: Darstellung der Lungenvolumina.....</i>	<i>41</i>
<i>Abbildung 9: schematische Darstellung der Auswertung der histologischen Schnitte.....</i>	<i>43</i>
<i>Abbildung 10: Real-Time Polymerase Kettenreaktion.....</i>	<i>44</i>
<i>Abbildung 11: graphische Darstellung der Herzfrequenz im Gruppenvergleich zu den verschiedenen Messzeitpunkten als Mittelwerte +/- Standardabweichung.....</i>	<i>51</i>
<i>Abbildung 12: graphische Darstellung des mittleren arteriellen Drucks (MAD) im Gruppenvergleich zu den verschiedenen Messpunkten als Mittelwerte +/- Standardabweichung</i>	<i>52</i>
<i>Abbildung 13: graphische Darstellung der Arterienol Laufrate im Gruppenvergleich zu den verschiedenen Messzeitpunkten als Mittelwert +/- Standardabweichung</i>	<i>53</i>
<i>Abbildung 14: graphische Darstellung des Horovitz-Quotienten (PaO_2/FiO_2) im Gruppenvergleich zu den verschiedenen Messzeitpunkten als Mittelwert +/- Standardabweichung.....</i>	<i>54</i>
<i>Abbildung 15: graphische Darstellung der Funktionellen Residualkapazität (FRC) im Gruppenvergleich zu den verschiedenen Messzeitpunkten als Mittelwert +/- Standardabweichung.....</i>	<i>55</i>
<i>Abbildung 16: graphische Darstellung des pulmonal arteriellen Mitteldruck im Gruppenvergleich, zu den verschiedenen Messzeitpunkten, als Mittelwert +/- Standardabweichung</i>	<i>56</i>
<i>Abbildung 17: makroskopisches Bild der Lunge von ventral ARDS53-03 (Lidocaintherapie p.i.).....</i>	<i>57</i>
<i>Abbildung 18: makroskopisches Bild der Lunge von dorsal ARDS53-03 (Lidocaintherapie p.i.).....</i>	<i>57</i>
<i>Abbildung 19: makroskopisches Bild der Lunge von ventral ARDS 53-17 (Sham)</i>	<i>58</i>

<i>Abbildung 20: histologische Gewebeprobe der Lunge von ARDS53-18 (Lidocain p.i.) (HE-Färbung).....</i>	<i>59</i>
<i>Abbildung 21: histologische Gewebeprobe der Lunge ARDS 53-14 (Lidocain i.v.) (HE-Färbung).....</i>	<i>60</i>
<i>Abbildung 22: graphische Darstellung, als Balkendiagramm, des pulmonalen Schadensscore nach der histologischen Auswertung nach dem DAD Scor, als Mittelwert +/- Standardabweichung.</i>	<i>61</i>
<i>Abbildung 23: Darstellung der Anzahl der Kopien des Proteins Tumornekrosefaktor-alpha (TNF-a) und Interleukon-6 (IL-6) im Lungengewebe im Gruppenvergleich als Säulendiagramm mit Mittelwert und Standardabweichung (*p<0,05 gegen Normo)</i>	<i>62</i>

Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1: New Global Definition ARDS Übersicht</i>	<i>16</i>
<i>Tabelle 2: Referenzblutwerte des Hausschweins</i>	<i>38</i>
<i>Tabelle 3: FiO₂/PEEP Anpassung nach der ALVEOLI Studie des ARDS Network</i>	<i>39</i>
<i>Tabelle 4: tabellarische Übersicht über die Vitalparameter im Gruppenvergleich</i>	<i>46</i>
<i>Tabelle 5: tabellarische Übersicht über die Blutgasanalyseparameter im Gruppenvergleich</i>	<i>48</i>
<i>Tabelle 6: tabellarische Auflistung der Ventilationsparameter im Gruppenvergleich</i>	<i>49</i>
<i>Tabelle 7: tabellarische Auflistung der Laborparameter im Gruppenvergleich.....</i>	<i>50</i>
<i>Tabelle 8: makroskopische und histologische Auswertung.....</i>	<i>59</i>
<i>Tabelle 9: tabellarische Auflistung des Wet-to-Dry Verhältnis der Lunge.....</i>	<i>63</i>

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	3
Abbildungsverzeichnis	6
Tabellenverzeichnis	8
Inhaltsverzeichnis	9
1 Einleitung	12
2 Literaturdiskussion	15
2.1 ARDS	15
2.1.1 Pathophysiologie	17
2.1.2 Therapie	21
2.2 Lidocain	23
2.3 Lipopolysaccharid	24
2.4 Interleukin-6	26
2.5 TNF- α	28
2.6 Zielsetzung	30
3 Material und Methoden	31
3.1 Materialien	31
3.1.1 Monitoring und Geräte	31
3.1.2 Medikamente und Infusionslösungen	31
3.1.3 Verbrauchsmaterialien	32
3.1.4 Chemikalien und Reagenzien	33
3.1.5 Software	33
3.2 Methoden	34
3.2.1 Versuchstiere und Gruppeneinteilung	34
3.2.2 Versuchsaufbau und Versuchsablauf	35
3.2.3 Narkosevorbereitung, Narkoseeinleitung und Narkoseaufrechterhaltung	36
3.2.4 Instrumentierung	37
3.2.5 Referenzblutwerte von Hausschweinen	38
3.2.6 Induktion des ARDS	38
3.2.7 Inhalation von Lidocain	39
3.2.8 Intravenöse Gabe von Lidocain	39
3.2.9 PiCCO	39
3.2.10 FRC – funktionelle Residualkapazität	40
3.2.11 Organentnahme und Aufbewahrung	41

3.2.12	<i>Makroskopische Analyse</i>	42
3.2.13	<i>Histologische Analyse</i>	42
3.2.14	<i>Molekularbiologie</i>	44
3.2.15	<i>Wet-to-Dry Verhältnis</i>	45
4	Ergebnisse	46
4.1	Vitalwerte	46
4.2	Blutgasanalyseparameter	48
4.3	Beatmungsparameter	49
4.4	Laborparameter	50
4.4.1	<i>Herzfrequenz</i>	51
4.4.2	<i>MAD – mittlerer arterieller Druck</i>	52
4.4.3	<i>Arterienol Lauftrate</i>	53
4.4.4	<i>Horovitz-Quotient</i>	54
4.4.5	<i>FRC – funktionelle Residualkapazität</i>	55
4.4.6	<i>Pulmonalarterien Mitteldruck</i>	56
4.5	makroskopische und histologische Auswertung des Lungenschadens	57
4.6	Molekularbiologische Auswertung	62
4.6.1	<i>Tumornekrosefaktor-alpha (TNF-α) und Interleukin-6 (IL-6)</i>	62
4.7	Wet-to-Dry Verhältnis	63
5	Diskussion	65
5.1	Vital und Laborparameter	66
5.2	makroskopische und histologische Auswertung des Lungenschadens	66
5.3	Molekularbiologie	67
5.4	Wet-to-Dry Verhältnis	67
5.5	Limitation der Studie	68
5.6	Schlussfolgerung	71
6	Zusammenfassung	72
7	Literaturverzeichnis	73
8	Anhang	79
8.1	Realtime RT-PCR LightCycler Protokoll	79
8.2	Protokoll zur HE-Färbung	84
8.3	Auswertungstabelle histologische Schnitte	86
9	Lebenslauf	87

Gender Disclaimer

In der vorliegenden Dissertationsarbeit wird darauf verzichtet, bei Personenbezeichnungen sowohl die männliche als auch die weibliche Form zu nennen. Die männliche Form gilt in allen Fällen, in denen dies nicht explizit ausgeschlossen wird, für beide Geschlechter.

1 Einleitung

Das Akute Atemnotsyndrom (acute respiratory distress syndrome - ARDS) ist ein akutes Lungenschadenssyndrom und beschreibt einen polyätiologischen Symptomkomplex. Durch diverse schädigende Faktoren (direkter, pulmonaler oder indirekter, systemischer Genese) kommt es zu einer massiven entzündlichen Reaktion der Lunge. Es folgt eine Kaskade pathophysiologischer Reaktionen, die sich in drei Phasen gliedern und die dann zu einem nicht-hydrostatischem, proteinreichem Lungenödem und somit zu einer schweren Oxygenierungsstörung führen. Dieses akut lebensbedrohliche Krankheitsbild geht mit einer hohen Letalität einher. (1)

In einer internationalen Studie von Meyer et al. durchgeführt 2016 (459 Intensivstationen weltweit eingeschlossen) ist beschrieben, dass 10% der Patienten auf der Intensivstation die Kriterien für ein ARDS erfüllen. Bei Patienten, die beatmet werden, erfüllen 23% die Kriterien für ein ARDS. (2) Die Sterberate ist in verschiedenen Studien sehr heterogen beschrieben und liegt zwischen 11% und 72%. (3) Gründe für diese unterschiedlichen Mortalitätsdaten sind unter anderem das uneinheitliche Patientenkollektiv (Alter, Begleiterkrankungen und Geschlecht), Umweltfaktoren (Niveau der wirtschaftlichen Entwicklung), der Schweregrad des Lungenschadenssyndroms und die Länder- und Krankenhausspezifischen Therapiemöglichkeiten. (4) Insgesamt zeigt sich im Verlauf eine sinkende Mortalitätstendenz, dennoch bleibt die Sterberate hoch. (3) Diese Zahlen machen deutlich, dass der weiteren Erforschung der Pathophysiologie und der Optimierung der Therapie des ARDS eine wichtige Rolle zukommt.

Erstmals wurde das ARDS 1967 von Ashbaugh et al. beschrieben. (5) In dieser Studie werden 12 Patienten aus einer Gruppe von 272 Patienten dargestellt, die mit akut beginnender Tachypnoe, respiratorischer Insuffizienz, reduzierter Compliance und bilateralen Infiltraten im Röntgen Thorax auffällig geworden sind. Die Mortalität unter den 12 Patienten betrug 58%.

Im Jahr 1994 wird das ARDS (AECC Definition) (6) wie folgt definiert:

- akuter Beginn
- Horovitz-Quotient ($\text{paO}_2/\text{FiO}_2$) ≤ 200 mmHg
- Horovitz-Quotienten ($\text{paO}_2/\text{FiO}_2$) von ≤ 300 mmHg sprach man von ALI (acute lung injury)
- beidseitige Infiltrate in der Röntgen Thorax Aufnahme
- Lungenkapillarverschlussdruck (Wedge-Druck) < 18 mmHg

Durch diese neue Definition wurden Patienten mit akuter Lungenschädigung, aufgrund der einfachen Anwendung, früher erkannt und konnten je nach Schweregrad in ARDS oder in Acute Lung Injury (ALI) eingeteilt und behandelt werden. Ein Nachteil der neuen Definition war, dass die zugrundeliegende Ursache für den Lungenschaden in der Definition nicht erfasst wird. (7) Seit 2012 existiert durch die European Society of Intensive Care Medicine, die American Thoracic Society und die Society of Critical Care Medicine definiert, eine neue und angepasste Einteilung des ARDS in drei Schweregrade. Die Berlin Definition unterteilt das ARDS in eine milde, moderate und eine schwere ARDS-Form. [ARDS Definition Task Force et al.] (8) Die Unterteilung in ARDS und ALI sowie die Messung des Lungenkapillarverschlussdrucks (PCWP – pulmonary capillary wedge pressure) zur Bestimmung des ARDS entfällt nach der neuen Definition.

Im Jahr 2023 wurde eine Erweiterung der Berlin Definition beschlossen, die „New Global ARDS-Definition“ in der nicht-invasive pulsoximetrische Methoden zur Bewertung der Oxygenierung und der Einsatz von nasalem Sauerstoff via Highflow-Sauerstofftherapie (high-flow nasal oxygen - HFNO) miteinbezogen wurden. (9) Die Überarbeitung der Definition des ARDS erfolgte mit dem Ziel, eine angepasste Definition zu finden, die Patienten mit ähnlichen Merkmalen, um die Alltagswirklichkeit in der klinischen Intensivmedizin besser abzubilden.

Das ARDS kann sowohl durch direkte, pulmonale als auch durch indirekte, systemische Auslöser hervorgerufen werden. (siehe Abb. 1) Direkte Ursachen können zum Beispiel Pneumonien (viral, bakteriell, mykotisch, parasitär), Aspiration, Rauchgasinhalation, Beinahe-Ertrinken oder schwere Lungentraumata sein. Indirekte Ursachen für ein ARDS können zum Beispiel eine schwere Sepsis oder SIRS, Polytraumata, Verbrennungen oder Vergiftungen (z.B. organische Phosphate oder trizyklische Antidepressiva) sein. In den allermeisten Fällen ist eine Pneumonie oder eine extrapulmonale Sepsis Auslöser des ARDS. (10)

Die optimale Therapie des ARDS ist weiterhin Gegenstand zahlreicher aktueller Forschungsprojekte. Die kausale Therapie umfasst die Behandlung der auslösenden Ursachen und kreislaufunterstützende Maßnahmen, sowie häufig differenzierte Beatmungstherapien je nach Schweregrad des ARDS. Eine medikamentöse Beeinflussung bzw. Therapie der pathophysiologischen Kaskade ist derzeit noch Gegenstand der aktuellen Forschung. (10)

Lidocain, ein Lokalanästhetikum vom Amid-Typ, steht schon länger im Fokus der Forschung, da es eine antiinflammatorische Wirkung hat. In verschiedenen Studien wurde z.B. an Kaninchen gezeigt, dass es auch beim ARDS einen nützlichen pharmakologischen Effekt haben kann. (11) Daher ist es Ziel der hier vorliegenden Studie, den Einfluss von Lidocain auf das ARDS am Großtiermodell (Schwein) zu erforschen und so möglicherweise eine neue Therapieoption für das ARDS auf den Intensivstationen zu etablieren.

2 Literaturdiskussion

2.1 ARDS

Das akute Atemnotsyndrom (ARDS) ist die Beschreibung eines klinischen Symptomkomplexes, das mit einer schweren, oft tödlich verlaufenden Entzündung der Lunge einhergeht. Die Definition eines ARDS hat folgende allgemeine Kriterien die für alle ARDS-Kategorien gelten (9) (New Global ARDS-Definition von 2023):

- **Zeitpunkt:** akute neu aufgetretene respiratorische Symptome oder sich innerhalb einer Woche verschlechternde hypoxämisch respiratorischen Insuffizienz
- **Bildgebung:** im Röntgen Thorax (alternativ im CT): bilaterale Verdichtungen/Trübungen, die sich nicht durch einen Pleuraerguss oder Atelektasen oder eine Raumforderung erklären lassen
oder neu: beidseitige B-Linien und/oder Konsolidierungen in der Sonographie (durch geübte Anwender), die nicht vollständig durch Ergüsse oder Atelektasen erklärt werden können.
- **Interstitielles Ödem:** akute prädisponierende Faktoren, wie z.B. eine Pneumonie, Trauma, Transfusion, Aspiration oder Schock, die das Lungenversagen und das Lungenödem nicht primär durch kardiale Ursache z.B. akute Herzinsuffizienz oder durch Hypervolämie zurückzuführen ist (z.B. Echokardiographie zur Diagnostik notwendig). Zudem muss die Hypoxämie oder die Gasaustauschstörungen nicht primär auf Atelektase zurückzuführen sein.

Klinisch zeigt sich ein ARDS, abhängig vom Auslöser, meist durch Tachypnoe und Kurzatmigkeit, teilweise mit produktivem Husten. Im Rahmen der Hypoxämie kann es bei den Patienten zu Anzeichen einer Zyanose z.B. im Bereich der Fingernägel kommen. Die Sauerstoffsättigung unter Raumluft ist in der Regel vermindert. (12)

Diese Einteilung des ARDS nach der Berliner Definition von 2012, basierte u.a. auf dem Schweregrad der Oxygenierungsstörung (Horovitz-Quotient). Das Verhältnis von paO_2 zu FiO_2 wird als Oxygenierungsindex angegeben (paO_2/FiO_2). Die physiologischen Werte des Horovitz-Quotienten (liegen etwa bei 350-500mmHg). (8) Die neue Einteilung des ARDS nach der „New Global Definition of ARDS“ bezieht nichtinvasive pulsoximetrische Methoden zur Oxygenierung mit ein, sowie die Verwendung von high-flow Sauerstofftherapie. Patienten mit einem akutem Atemversagen, die mit HFNO behandelt wurden, haben bisher nicht den alten ARDS-Kriterien nach der Berliner Definition entsprochen, da eine invasive oder nichtinvasive mechanische Beatmung mit einem

positiven endexpiratorischen Druck (PEEP) von mindestens 5 cm H₂O erforderlich war. (siehe auch Tab. 1) Zudem wurde die Diagnostik der ARDS um die Lungensonographie ergänzt.

Tabelle 1: New Global Definition ARDS Übersicht Quelle; (Quelle: modifiziert nach Matthay, M. A., et al. (2024). "A New Global Definition of Acute Respiratory Distress Syndrome." Am J Respir Crit Care Med 209(1): 37-47.)

New Global ARDS 2023			
Neue Definitionskriterien			
Zeitlicher Beginn	akute Symptomatik oder Beginn bis zu 1 Woche		
Lungenödem	Nicht primär durch ein kardiales Lungenödem oder Hypervolämie erklärbar		
Radiologische Kriterien	Bilaterale Verdichtungen im Röntgen Thorax oder im CT oder beidseitige B-Linien/Konsolidierungen im Ultraschall (nicht durch Atelektasen oder Ergüssen erklärbar)		
Oxygenierung	nicht intubierte Patienten	intubierte Patienten	modifizierte Definition
	<p>paO₂:FiO₂ <300mmHg</p> <p>SpO₂:FiO₂<315 (SpO₂ 97%)</p> <p>HFNO mit 30l/Min</p> <p>NIV/CPAP mit PEEP Minimum 5cmH₂O</p>	<p>Mild: 200 < paO₂:FiO₂ < 300 mmHg oder 235 < SpO₂:FiO₂ ≤ 315 (wenn SpO₂ < 97%)</p> <p>Moderat: 100 < paO₂:FiO₂ < 200 mm Hg or 148 < SpO₂:FiO₂ < 235 (wenn SpO₂ < 97%)</p> <p>Schwer: paO₂:FiO₂ <100 mmHg oder SpO₂:FiO₂ < 148 (wenn SpO₂ < 97%)</p>	<p>SpO₂:FiO₂ < 315 (SpO₂ < 97%)</p> <p>weder eine PEEP-Einstellung noch eine minimale Flussrate des Sauerstoffs wird für die Diagnose benötigt</p>

Allen ARDS-Graden ist gemeinsam, dass sie zu einer Schädigung des Lungengefäßendothels führen. Des Weiteren wird eine Kaskade aktiviert, die das Entzündungs- und das Gerinnungssystem betreffen. (13)

Differentialdiagnostisch können anstatt eines ARDS z.B. eine Transfusionsassoziierte akute Lungeninsuffizienz (TRALI), eine Transfusionsassoziierte zirkulatorische Überladung

(TACO), ein kardiales Lungenödem bei Linksherzinsuffizienz oder eine Fluid Lung bei Niereninsuffizienz in Frage kommen.

Es existieren mehrere Komorbiditäten, die mit einer erhöhten Anfälligkeit für das Auftreten eines ARDS zeigen. Hierzu zählen der übermäßige Konsum von Alkohol, Rauchen, Luftschadstoffe und eine Hypoalbuminämie. Laut der Studie von Matthay et al. von 2019 stehen Patienten mit Diabetes, aus noch ungeklärten Gründen, im Verdacht ein niedrigeres Risiko für die Entwicklung eines ARDS zu haben. (1) Es gibt Studien, die unterschiedlichen Ethnien in Bezug auf eine ARDS-Erkrankung untersucht haben. Hier zeigte sich, dass Patienten mit hispanischen und afroamerikanischen Wurzeln ein höheres Risiko für die Entwicklung eines ARDS im Vergleich zu hellhäutigen Ethnien besitzen. Zudem hatten Männer eine höhere Sterblichkeit als Frauen. (1) In diesem Zusammenhang gab es mehrere Studien in den letzten 10 Jahren, die Versucht haben genetische Faktoren zu identifizieren, die mit dem Risiko der Entwicklung eines ARDS einhergehen. Es sind jedoch keine spezifischen Genloci entdeckt worden. Dies wird vermutlich in der phänotypischen Komplexität des ARDS begründet sein. (14)

Entscheidend für die Prognose und das Outcome nach einem ARDS ist die frühe Diagnosestellung und ein strukturiertes Behandlungskonzept. Für Patienten, die ein ARDS überlebt haben, ergeben sich häufig relevante Langzeitfolgen.

2.1.1 Pathophysiologie

Das akute Atemnotsyndrom (ARDS) ist ein polyätiologisches Syndrom, welches durch eine Vielzahl von Noxen ausgelöst werden kann. Es kann durch direkte, pulmonale Auslöser oder durch indirekte, systemische Auslöser verursacht werden. Am häufigsten entsteht ein ARDS auf der Basis eines infektiösen Geschehens, z.B. einer Lungenentzündung (bakteriell oder viral, sehr selten durch Pilze). Andere Gründe können z.B. eine nicht pulmonale Sepsis, ein schweres Trauma, ein Rauchgasinhalation und Verbrennungen oder eine akute Pankreatitis sein. (1) (siehe Abb. 1)

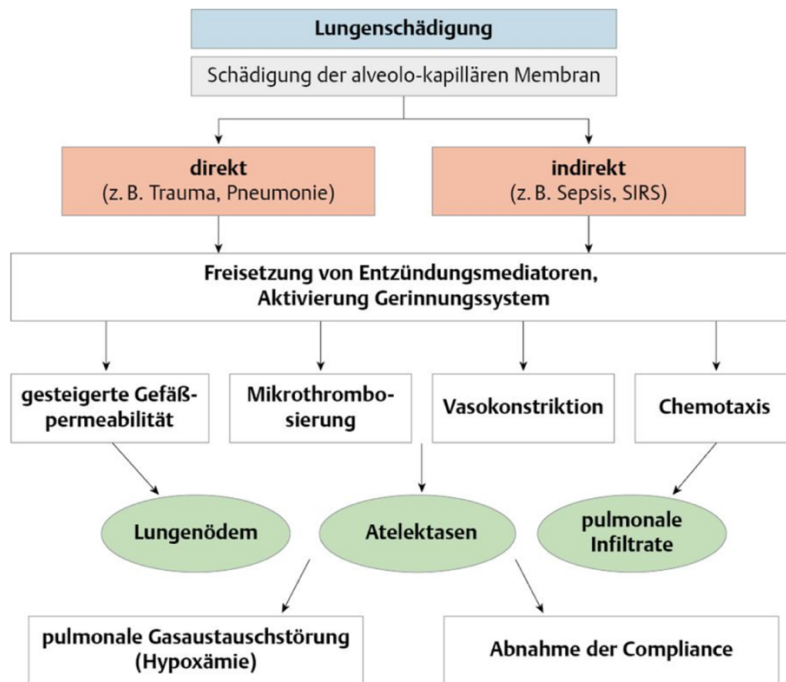


Abbildung 1: Pathogenese des ARDS nach Oczenski 2012, *Atmen und Atemhilfen*, 9. Auflage, Thieme Verlag

Pathophysiologisch kommt es zur Inflammation mit massiven Anhäufungen von Makrophagen und polymorphkernigen neutrophilen Leukozyten in der Lunge. (15) Das Endothel, in einer intakten Lunge, wird durch vaskuläres endotheliales Cadherin (VE-Cadherin) stabilisiert. Bei Lungenschädigungen, wie z.B. durch ein ARDS, kommt es u.a. zu erhöhten Konzentrationen von Thrombin und Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- α). Diese destabilisieren die VE-Cadherin Verbindungen und in der Folge kommt es zu einer erhöhten endothelialen Permeabilität. Durch vasoaktive Mediatoren aus Mastzellen (u.a. Histamin) kommt es zur Vasodilatation und einer erhöhten endotheliale und epitheliale Permeabilität. (16) Des Weiteren kann die epitheliale Barriere durch bakterielle, porenbildende Toxine und mechanische Dehnung geschädigt werden. In der Gesamtfolge kommt es zu einer vermehrten Ansammlung von Alveolarflüssigkeit, welche eine Hypoxämie bei den Patienten bedingt und in den meisten Fällen eine mechanische Ventilation erforderlich macht. Die CO₂ Elimination ist durch die vaskuläre Schädigung und das Lungenödem ebenfalls stark vermindert. (1) (16)

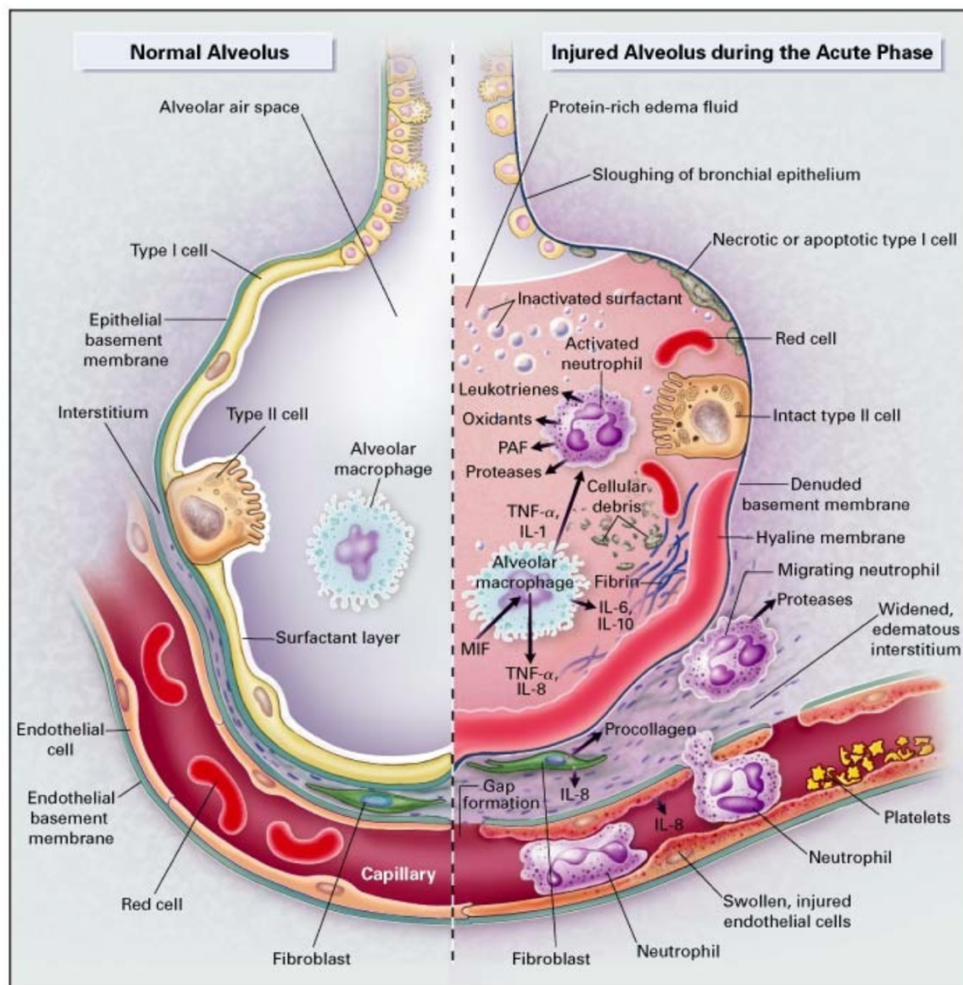


Abbildung 2: Der Vergleich einer gesunden Alveole und einer geschädigten Alveole durch ein ARDS

(Quelle: Ware, L. B. and M. A. Matthay (2000). "The acute respiratory distress syndrome." *N Engl J Med* 342(18): 1334-1349.)

In der Lunge befinden sich transepitheliale Na^+/K^+ -ATPase und epitheliale Natriumkanäle (ENaC), die für den Ionentransport und somit der Regulation der Osmolarität verantwortlich sind. Durch den Na^+ -Transport entsteht ein osmotischer und elektrochemischer Gradient. Dies führt zu einer passiven Flüssigkeitsabsorption. Bei einer gesunden Lunge wird so die zelluläre Homöostase aufrechterhalten. Beim ARDS kann durch die sogenannte alveolar fluid clearance (AFC) die Ödemflüssigkeit aus den Alveolen abtransportiert werden, jedoch ist die AFC bei den meisten Patienten während eines ARDS stark reduziert (Abb. 20). Es wurde nachgewiesen, dass die Patienten mit einem ARDS ein besseres klinisches Outcome haben, je besser die maximale alveoläre Flüssigkeitsausscheidung (AFC) ist. (17)

Durch die Freisetzung von Mediatoren aus den Granulozyten kommt es zur Zerstörung der Pneumozyten Typ I und II. Aufgrund der Verletzung der Surfactant produzierenden Pneumozyten Typ II wird weniger und nur funktionseingeschränktes Surfactant gebildet.

Durch Proteolyse wird zusätzlich Surfactant zerstört. In der Folge kommt es zur Erhöhung der Oberflächenspannung in den Alveolen und zur Ausbildung von Atelektasen. All dies führt am Ende zu einer Beeinträchtigung des Gasaustauschs, einer Abnahme der Lungen-Compliance und einem erhöhten pulmonal-arteriellen Druck. (16)

Durch die Perfusion von minderbelüfteten Lungenarealen kommt es zur Beimischung von gemischt-venösem Blut in den Körperkreislauf und dadurch zur Entstehung eines Rechts-Links Shunts. Durch die Zerstörung dieser kommt es wiederum zur Freisetzung von weiteren Mediatoren und zu einem „Crosstalk“ mit anderen Organen. So kann es zur Insuffizienz, z.B. von Leber und Niere kommen und daher zum Multiorganversagen.

Zeitlich kann das Akute Atemnotsyndrom in drei unterschiedliche Phasen eingeteilt werden. In der ersten Phase, der exsudativen oder inflammatorischen Phase (Tag 1-7), kommt es zur Ausbildung eines proteinreichen, interstitiellen und alveolären Ödems. Makroskopisch ist eine sogenannte „wet-lung“ erkennbar. Ferner kommt es zum Verlust der Basalmembran. In der zweiten Phase, der proliferativen Phase (ab Tag 3), bilden sich kapilläre Mikrothromben. Zudem kommt es zur Proliferation von Pneumozyten II und es beginnt eine frühe Ablagerung von Kollagen in der Lunge. Bei makroskopischer Betrachtung würde die Lunge in der proliferativen Phase als feste und diffuse graue Lunge erscheinen. In der dritten Phase (ab Tag 7), der fibrotischen Phase, zeigen sich mikroskopisch deutlich verdickte Kapillarmembranen und eine generalisierte Fibrose. Makroskopisch zeigt sich eine Hepatisation der Lunge und damit einhergehend eine dunkelrote Färbung. Eine schrittweise Fibrosierung der Lunge führt zu einer Herabsetzung der Lungen Compliance. (18) Dadurch schrumpft die funktionelle Residualkapazität (FRC) und die Vitalkapazität und es kommt zum respiratorischen Versagen. Radiologisch zeigen sich im Röntgen Thorax meist beidseits diffuse Infiltrate. Voraussetzung für die Diagnose eines ARDS ist, dass die Symptome nicht durch kardiale Ursachen oder Volumenüberschuss zu erklären sind.

Die Verteilung der geschädigten und weniger geschädigten Lungenbereiche ist inhomogen. Aufgrund der Rückenlage der meisten Patienten und dem dort herrschenden hydrostatischen Druckgefälle, finden sich im dorsobasalen Bereich ausgeprägtere, pathologische Veränderungen und ein stärker ausgeprägtes Lungenödem. (1)

Die Beeinflussung der pathophysiologischen Kaskade ist noch Gegenstand der aktuellen Forschung und Teil dieser Dissertation.

2.1.2 Therapie

Auch nach vielen Jahren der intensiven Forschung gibt es keine effektive Pharmakotherapie zur Behandlung des ARDS. Im Vergleich zur Erstbeschreibung des ARDS von 1967 durch Ashbough et al. ermöglicht die moderne Intensivmedizin eine bessere Überlebenschance für die Patienten mit einem ARDS. (19)

Für die Identifikation eines ARDS ist eine ausführliche Diagnostik, sorgfältige Anamnese und Bildgebung (Röntgen Thorax oder CT-Thorax) notwendig. Eine etablierte Standarddiagnostik existiert bisher leider nicht. Zur infektiologischen Diagnostik gehört die kulturelle Diagnostik (bakterielle Identifizierung) aus respiratorischem Material und Blut und die Testung auf Atemwegsviren mittels PCR. Eine bronchoalveoläre Lavage (BAL-Zytologie) sollte bei Patienten mit schwerem ARDS, zur erweiterten Diagnostik, durchgeführt werden. Eine Lungenbiopsie zur Sicherung der Diagnose eines ARDS ist heutzutage im Regelfall nicht notwendig. (20)

Die primäre kausale Therapie der Wahl ist die Behebung der auslösenden Ursachen und die supportive Unterstützung der kardiopulmonalen Funktionen. Bei Patienten mit Multiorganversagen sind oft invasive Maßnahmen zur Kreislaufunterstützung und eine Beatmungstherapie notwendig. Die Therapie beinhaltet eine Lungenprotektive Beatmung mit kleinen Atemzugvolumina ($\leq 6\text{ml/kgKG}$) und begrenzten Spitzendrücken. (21) Die invasive, mechanische Beatmung ist Teil des unterstützenden Therapieregimes und ein Faktor der einen verbesserten Gasaustausch aufrechterhält. Daher ist die invasive Beatmung eine wichtige Säule in der Therapie des schweren ARDS. Folgende Faktoren machen eine Intubation notwendig:

- akute respiratorische Insuffizienz mit Hypoxämie und/oder Hyperkapnie
- akute oder drohende Atemwegsverlegung
- tiefe Bewusstlosigkeit

Ziel der Beatmungstherapie ist die Verbesserung der Oxygenierung und die Decarboxylierung. Für die Genesung von ARDS-Patienten ist die Resorption des Lungenödems und die Wiederherstellung der endothelialen und epithelialen Barriere, eine wichtige Voraussetzung. Es ist aus verschiedenen Studien bekannt, dass eine höhere alveolar fluid clearance (AFC) eine bessere Überlebenschance gewährleistet. Aufgrund des biomechanischen Stresses, z.B. durch zu hohe Tidalvolumina, durch die Beatmung kann die AFC weiter reduziert werden. Daher ist es eine lungenprotektive Beatmung und ein konservatives Flüssigkeitsregime wichtig, um Morbidität und Mortalität beim akuten Lungenschadenssyndrom (ARDS) zu verringern. (17)

Durch einen ausreichenden inspiratorischen Druck können kollabierte Lungenbläschen geöffnet werden und bei der Exspiration durch einen adäquaten PEEP offengehalten werden. Bei milden oder moderaten Formen des ARDS kann auch ein NIV- oder highflow Therapie erwogen werden. Der Unterschied, ob eine druck- oder volumenkontrollierte Beatmung durchgeführt wird, hat laut Meta-Analysen kein Einfluss auf die 28 Tage ICU Überlebenschance. (22) Neben der Behandlung der Ursache stellt die lungenprotektive Beatmung eine wichtige Therapiemaßnahme dar:

- Tidalvolumen $\leq 6 \text{ ml/kgKG}$
- PEEP $\geq 5 \text{ cmH}_2\text{O}$
- Spitzendrücke $\leq 30 \text{ cmH}_2\text{O}$
- Inspiratorische Druckdifferenz $\leq 15 \text{ cmH}_2\text{O}$
- FiO_2 niedrigstmöglicher Wert zum Erreichen des Oxygenierungsziels (paO_2 60-80 mmHg)
- I:E 1:2 bis 1:1

Unterstützend kann eine Bauchlagerungstherapie („prone position“) eine wichtige Ergänzung der Therapie darstellen. Dazu werden die Patienten im Intervall $\geq 16 \text{ h}$ auf den Bauch- und zurück auf den Rücken gedreht. Dies führt zur Verbesserung des Ventilations-Perfusions-Verhältnisses und zur Reduktion des Pleuradruck-Gradienten. (1) Die geschädigte Lunge reagiert im Rahmen der ARDS Therapie sehr inhomogen auf die lungenprotektive Beatmung und Rekrutierungsmanöver. Infolgedessen kann es erneut zu einer Belastung des Lungengewebes und zu einer erhöhten Gefäßpermeabilität und Entzündung kommen. Patienten mit einem ARDS haben eine hohe Entzündungslast und aufgrund der lungenprotektiven Beatmung, meist niedrige Tidalvolumen mit evtl. einhergehender Hyperkapnie. Diese Faktoren können zu einem gesteigerten Atemantrieb führen. Durch die möglicherweise daraus entstehende Dyssynchronität zwischen dem Beatmungsgerät und dem beatmeten Patienten können vermehrte Scherkräfte und dadurch Baro- oder Volutrauma entstehen. Daher wurden in verschiedenen Studien Muskelrelaxantien zur neuromuskulären Blockade eingesetzt. Die Ergebnisse empfehlen keine einheitliche Nutzung der neuromuskulären Blockade, aber bei Patienten mit mittelschwerem bis schwerem ARDS und Erschwernis der tiefen Sedierung, kann es eine ergänzende Maßnahme darstellen. (23)

Neue Therapieansätze, wie z.B. die extrakorporale Membranoxygenierung (ECMO), sind bisher ohne Nachweis eines verbesserten Outcomes. (19)

Weitere begleitende therapeutische Maßnahmen im Rahmen des ARDS sind die Unterstützung der kardiopulmonalen Funktion, Flüssigkeitstherapie und die antiinfektive Therapie:

- **kausale Therapie:** Fokussanierung „source control“ (Beseitigung von Infektionsherden, z.B. mittels Inzision und/oder Drainage von Abszessen)
- intravenöse Antiinfektiva
- Lungenprotektive Beatmung
- Organersatzverfahren: Dialyse, evtl. Herz- oder Leberersatzverfahren (bridging for transplant)
- **supportive Therapie:** Kreislaufstabilisierung (angepasster Volumenersatz durch Kristalloidlösung, Vasopressoren, Transfusionstherapie)
- Ernährung und metabolische Kontrolle
- **adjunktive Therapie:** z.B. Hydrocortison, Selen, Immunglobuline (10)

2.2 Lidocain

Lidocain gehört zur Gruppe der Lokalanästhetika vom Amid-Typ und besteht aus einer lipophilen und einer hydrophilen Untereinheit. Es zeigt, sowohl bei akuten als auch bei chronischen Schmerzen eine antinozizeptive Wirkung. Lidocain wird in der Anästhesie u.a. zur reversiblen und örtlichen Betäubung eingesetzt. Durch den schnellen Wirkeintritt und die große therapeutische Breite ist Lidocain in vielen Bereichen das Mittel der Wahl. Ein weiterer Vorteil sind die vielen Applikationsmöglichkeiten. Lidocain kann topisch, intravenös, subkutan, epidural oder intrathekal angewendet werden. Bei systemischer Applikation ist Lidocain zu 60-80% an Proteine gebunden. Durch passive Diffusion ist es in der Lage die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden. (24)

Zusätzlich wird Lidocain als Anti-Arrhythmikum bei der Therapie von Herzrhythmusstörung eingesetzt. Es werden unspezifisch spannungsabhängige Natriumkanäle blockiert und so der Einstrom von Natrium verhindert. Damit ist die Depolarisation und die Bildung eines Aktionspotenzials unterbunden und folglich die Weiterleitung eines Nervenimpulses. Bei systemischer Gabe kann es, in zu hoher Dosierung, zu kardialer und zerebraler Toxizität kommen, da nicht nur die Natriumkanäle an den peripheren Nerven blockiert werden, sondern auch in anderen Bereichen, wie z.B. im Gehirn oder im Herzen. (25)

Lidocain hat gezeigt, dass es einen Einfluss auf die Entzündungsreaktion im Körper hat. Lokalanästhetika können die Leukozytenadhäsion und die Leukozytenmigration hemmen

und so der Entzündungsreaktion im Körper entgegenwirken. (26) Außerdem kann Lidocain die Bildung toxischer Sauerstoffmetaboliten reduzieren. Es wird ein hemmender Einfluss auf inflammatorische Zellen, z.B. polymorphkernige Granulozyten, Makrophagen und Monozyten, beschrieben und es verringert folglich die Freisetzung proinflammatorischer Mediatoren wie z.B. Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- α) und Interleukin-6 (IL-6). (25) Studien deuten darauf hin, dass Lidocain die Funktion neutrophiler Granulozyten hemmt und diese somit nicht an den Endothelzellen anhaften können. (27) Zudem stabilisiert Lidocain die Zellmembran. Laut der Arbeit von Hollmann et al. (28) und Nishina et al (11) verringert Lidocain die Ansammlung von polymorphkernigen Granulozyten in der Lunge. Infolgedessen kommt es zur Verringerung der Schädigung des Endothels und somit zu einem weniger stark ausgeprägten Lungenödem. In den Versuchen wurde eine geringere Konzentration von IL-6 im Plasma und in der broncheoalveolären Lavage, bei den mit Lidocain therapierten Tieren, nachgewiesen werden. (28)

Bei der Vernebelung von Lidocain wurden unterschiedliche pathophysiologische Reaktionen in der Lunge beobachtet. Hierzu zählen unter anderem: peribronchiale Eosinophilen- und Neutrophileninfiltration, subepitheliale Fibrose, erhöhter Kollagen- und Schleimgehalt, Matrix-Metalloproteinase-9-Aktivität und erhöhte Werte von Interleukin-4 (IL-4), Interleukin-5 (IL-5), Interleukin-13 (IL-13) und Eotaxin-1. (29) Diese Ergebnisse können möglicherweise auf die entzündungshemmenden Eigenschaften des Lokalanästhetikums Lidocain zurückgeführt werden.

Zudem wurde Lidocain als potenzielle Therapie für die Coronavirus-Krankheit-2019 (COVID-19) vorgeschlagen, da es in der Lage ist, den Zytokinspiegel zu senken, die Lunge zu schützen und so die Morbidität und Mortalität zu verringern. (30)

2.3 Lipopolysaccharid

Lipopolysaccharide (LPS) sind gut charakterisierte, pathogene, chemische Verbindungen aus Lipid- und Zuckereinheiten. LPS befindet sich in der äußeren Membran der meisten gramnegativen Bakterien und wird als Endotoxin bezeichnet. Die exakte Struktur von LPS variiert von Bakterium zu Bakterium und kann möglicherweise die Virulenz des Bakteriums beeinflussen. (31)

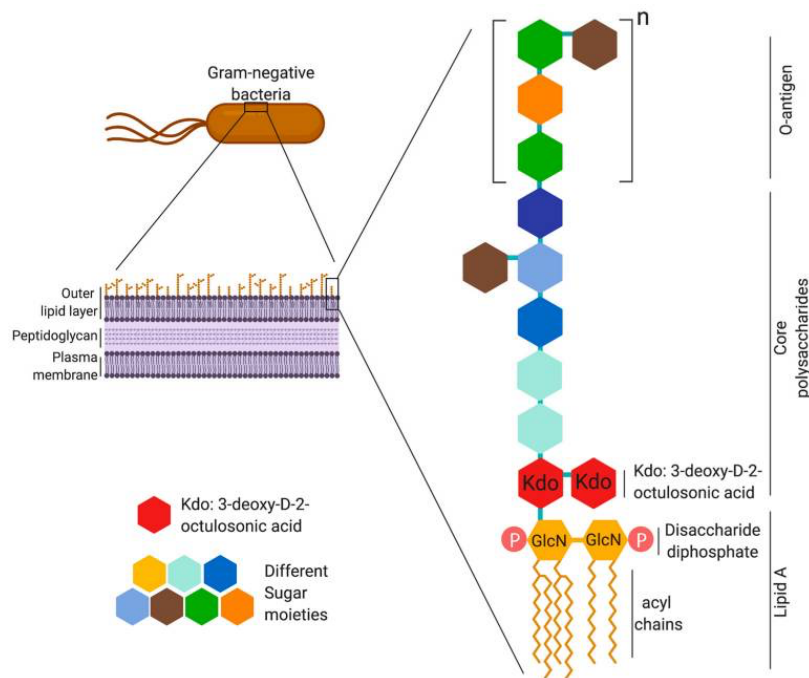


Abbildung 3: Struktur Lipopolysaccharid eines Gram negativen Bakteriums (Quelle: Lalita Mazgaen and Prajwal Gurung, *Int J Mol Sci.* 2020 Jan; 21(2): 379. Published online 2020 Jan 7. doi: 10.3390/ijms21020379)

Aufgebaut ist LPS aus drei Teilen: aus einem Lipid A (hydrophobe Komponente), einer Kernregion und dem Polysaccharid (hydrophile Komponente). Das Lipid A bildet den innersten Bereich und ist zugleich als Haupt-Bioaktivität des Endotoxins verantwortlich und wird beim Zerfall der Bakterien freigesetzt. Die Kernregion ist an das Lipid A gebunden und ist aus einer äußeren und einer inneren Kernregion aufgebaut. Das Polysaccharid bildet den äußersten Bereich und ist aus mehreren Hexosen aufgebaut. Durch mehrfache Wiederholung der einzelnen Zuckersequenzen bilden sich lange Zuckerketten. Dieses Polysaccharid bezeichnet man als O-Polysaccharid, da es als O-Antigen fungiert. (siehe Aufbau LPS in Abb. 3) Der Bereich des Polysaccharids ist je nach Bakterienart variabel und kann so zur Differenzierung von unterschiedlichen Bakterienarten genutzt werden. (32)

LPS wird von unterschiedlichen Rezeptoren und akzessorischen Proteinen im Wirtsorganismus erkannt. Das Lipopolysaccharid-bindende Protein (LBP), welches in der Leber sezerniert wird, ist ein Plasmaprotein und bindet das freie LPS. Das Lipopolysaccharid-bindende Protein gehört zu der Familie der Akute-Phase-Proteine.

Die Lipid-A Untereinheit wird von LBP erkannt und es bildet sich ein hochaffiner Komplex aus LBP und Lipid-A. Die Rolle des LBP besteht darin, den LPS-Rezeptorkomplex auf den CD14-Rezeptor zu übertragen und mit diesem einen Komplex zu bilden. (11) Der CD14-Rezeptor befindet sich an der Zelloberfläche und ist dort über einen

Glycosylphosphatidylinositol-Anker verbunden. LPS wird durch CD14 in einzelne Moleküle aufgespalten. CD14 präsentiert die Moleküle dem Toll-like Rezeptor (TLR) 4 und dem Myeloischen Differenzierungsfaktor 2 (MD-2) die gemeinsam ein Heterodimer bilden (TLR4-MD-2-Komplex). (33) Durch die Bindung von LPS an den TLR4-MD-2-Komplex kommt es zur Aktivierung mehrerer Signalkomponenten, darunter dem nuklearen Faktor Kappa-B (NF- κ B) und IRF3 und zur Produktion proinflammatorischer Zytokine (z.B. TNF- α und IL-6). (34)

Die Verwendung von LPS zur Induktion eines ARDS im Tiermodell ist eine weit verbreitete und etablierte Methode. (35)

2.4 Interleukin-6

Zytokine sind eine heterogene Gruppe von zellregulatorischen Proteinen oder Glykoproteinen, die für eine autokrine, parakrine oder endokrine Signalübertragung wichtig sind. Sie werden durch unterschiedliche Zellarten, jedoch vorwiegend von Makrophagen und T-Lymphozyten produziert. Zytokine spielen eine wichtige Rolle als interzelluläre Nachrichtenproteine und Mediatoren für Entzündungsreaktionen. (36)

Interleukine sind spezifische Zytokine, die vor allem immunologische Vorgänge steuern. Hierzu zählt zum Beispiel das vierhelikale Interleukin-6 oder auch kurz IL-6 genannt. (37) Interleukin-6 zählt zu den proinflammatorischen Zytokinen und wird auch als B-Zell-stimulierender Faktor bezeichnet. (38) Es wird überwiegend durch Immunzellen (Makrophagen und Monozyten), aber auch durch Endothelzellen und Fibroblasten sezerniert.

Codiert wird das Glykoprotein IL-6 auf Chromosom 7 (7p21). Durch die Anwesenheit von Prostaglandin E₂, welches durch bakterielle Pyrogene stimuliert wird, wird die Biosynthese von IL-6 verstärkt. IL-6 wirkt als endogenes Pyrogen und beeinflusst daher im Rahmen von Infektionen die Entwicklung von Fieber. IL-6 bindet an spezielle membrangebundene IL-6 Rezeptoren (IL-6R), die sich ausschließlich auf Hepatozyten und Leukozyten befinden.

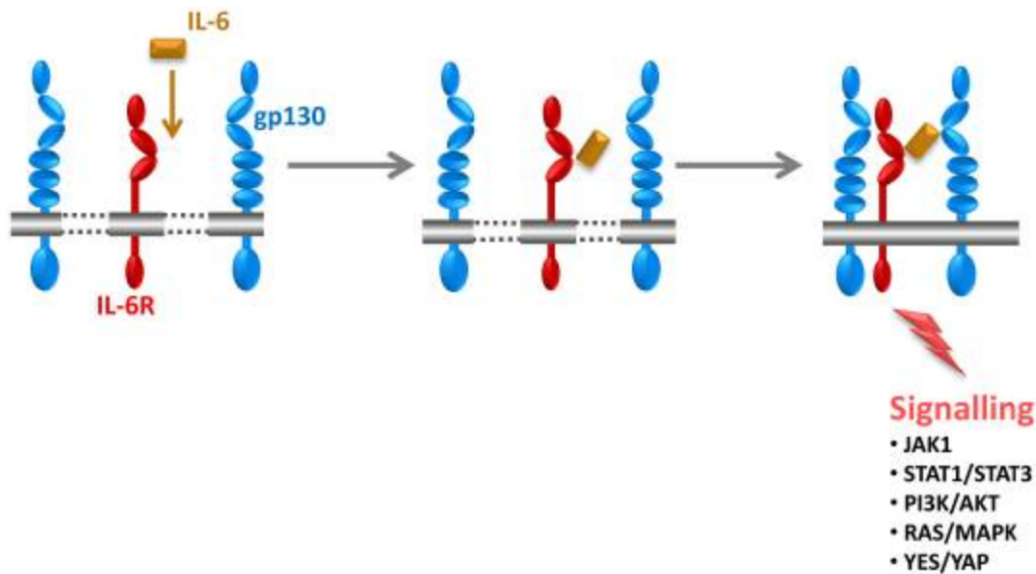


Abbildung 4: Interleukin 6 Rezeptorbindung und Signalkaskade (Quelle: Rose-John, S. (2020). "Interleukin-6 signalling in health and disease.")

Das membranständige Glykoprotein 130 (gp130) wird ubiquitär an den Zellen exprimiert. Nur in Kombination aus IL-6, IL-6-Rezeptor, exprimiert auf Hepatozyten und Leukozyten, und gp130 kommt es zur Dimerisierung des Rezeptors und somit zur intrazellulären Signalübertragung. (39) Über die Aktivierung des Janus-Kinase Signalweges (JAK1) und den Aktivator of Transkription (STAT1/STAT3 - signal transducers and activators of transcription) Signalweg wird eine intrazelluläre Signalkaskade in Gang gesetzt (siehe Abb. 4). Dies wird als klassischer Signalweg bezeichnet. (37)

Die membrangebundene Metalloprotease A-Desintegrin und Metalloprotease 17 (ADAM17) kann den membrangebunden IL-6R spalten und so einen löslichen IL-6R (sIL-6R) erzeugen. Interessanterweise kann der sIL-6R immer noch IL-6 binden und der Komplex aus IL-6 und sIL-6R kann mit dem ubiquitär exprimierten gp130 assoziieren und einen Trans-Signalweg aktivieren. Dies erweitert das Spektrum der Zielzellen für IL-6. Die ADAM17-Aktivität ist unter normalen Umständen sehr gering und nur während Entzündungsreaktion und bei Krebserkrankungen stark erhöht. (37)

Eine Dysregulation von IL-6 hat beispielsweise bei der Entstehung von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen und von rheumatoiden Erkrankungen eine wichtige Rolle. Unter gesunden homöostatischen Umständen beträgt die Blutkonzentration von IL-6 nur circa 1-5 pg/ml. Bei Infektionen oder Entzündungen kann die IL-6 Konzentration um das 1000fache ansteigen und mehrere Mikrogramm/ml betragen. Damit ist Interleukin-6 ein wichtiges Alarmsignal im menschlichen Körper als Reaktion auf Infektionen und Entzündungsprozesse. (37)

Interleukin-6 hat zudem viele weitere Funktionen. Unter anderem fördert IL-6 die spezifische Differenzierung von naiven CD4⁺ T-Zellen und hat somit eine wichtige Schlüsselfunktion in der Verknüpfung von angeborener und erworbener Immunantwort. Des Weiteren zählt die Reduktion von Albumin und Transferrin, die Regulierung des Eisen- und Zinkspiegels im Serum und die Reifung von Megakaryozyten, welches zur vermehrten Freisetzung von Blutplättchen aus dem Knochenmark führt. (40)

2.5 TNF- α

Zytokine mit dem Namen Tumornekrosefaktor sind Glykoproteine, die Akute-Phase Proteine aktivieren können. Sie werden hauptsächlich durch Makrophagen gebildet und sind u.a. an der Beeinflussung der Apoptose, Zellproliferation, Zelldifferenzierung und an der Ausschüttung weiterer Zytokine beteiligt. Ein wichtiger Vertreter ist der Tumornekrosefaktor-alpha oder auch kurz TNF- α oder veraltet „Kachektin“ genannt.

Es wurde erstmals 1975 als Endotoxin-induziertes Glykoprotein beschrieben, das bei Versuchen an Mäusen zu einer hämorrhagischen Nekrose des künstlich erzeugten Sarkoms führte. TNF- α ist auf Chromosom 6 lokalisiert und wird zum größten Teil von Makrophagen und T-Lymphozyten sezerniert (aber auch in geringerem Maße von Endothelzellen, Fibroblasten, Herzmuskelzellen und anderen Immunzellen). Bei Gesunden ist TNF- α in der Regel im Serum nicht nachweisbar. Kommt es zu einer entzündlichen Erkrankung im Körper steigt der Serumspiegel an. Die Höhe des Serumspiegels von TNF- α korreliert mit der Schwere der Erkrankung. (41)

TNF- α ist ein proinflammatorisches Zytokin und an nahezu allen Entzündungsreaktionen beteiligt. TNF- α hat einen wichtigen Einfluss auf die rezeptorvermittelte Entzündungsreaktion in der verletzten Lunge. Es wird zunächst als homodimeres Propeptid gebildet und durch die Metalloprotease TNF- α Converting Enzyme (TACE) in seine lösliche Form gespalten und dann freigesetzt.

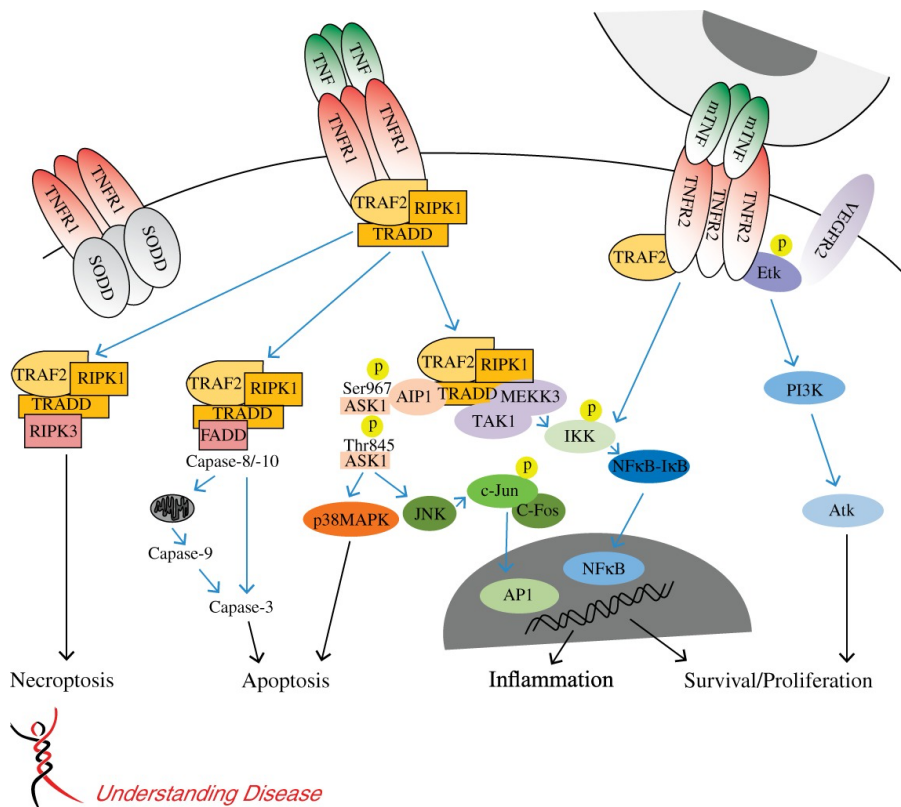


Abbildung 5: Der Signalweg von Tumornekrosefaktor-alpha (Quelle: *The Journal of Pathology*, Volume: 230, Issue: 2, Pages: 132-147, First published: 04 March 2013, DOI: (10.1002/path.4187))

Seine Wirkung vermittelt TNF- α über seine beiden Rezeptoren TNF-R1 und TNF-R2, die auf verschiedenen Zelltypen in krankem und gesundem Gewebe exprimiert sind. (siehe Abb. 5) TNFR1 hat vermutlich die Funktion die proinflammatorischen Signalwege und den programmierten Zelltod zu vermitteln. Die Signalübertragung von TNFR2 hat vermutlich den Effekt der Förderung der Gewebereparatur und der Angiogenese. Beispielsweise besitzt TNF- α eine systemische endotoxische Wirkung, die z.B. zu Fieber, Hypotonie und einem Schock führen kann. Daher wird TNF- α in Bezug auf die Pathophysiologie schwerwiegender Erkrankungen, wie z.B. Sepsis oder auch Autoimmunerkrankungen, eine entscheidende Rolle zugeschrieben. Des Weiteren hat TNF- α eine appetitmindernde Wirkung auf den Organismus, woher der alte Name „Kachektin“ hervorgeht, da TNF- α bei Mäusen mit Kachexie entdeckt wurde.

Mittlerweile gibt es drei Antikörper-Medikamente (Infliximab, Adalimumab und Etanercept) auf dem Markt, die TNF- α binden können und so den Effekt von TNF- α hemmen. Eingesetzt werden die Medikamente z.B. zur Therapie von Morbus Chron, rheumatoider Arthritis und Psoriasis.

2.6 Zielsetzung

Das acute respiratory distress syndrom (ARDS) ist ein polyätiologischer Symptomkomplex, der aufgrund unterschiedlicher (direkter oder indirekter) Ursachen entsteht. Noch immer fehlt, auch nach vielen Jahren der intensiven Forschung, eine konkrete pharmakologische Therapie für das ARDS. Lediglich eine symptomatische und supportive Therapie ist auf der Intensivstation aktuell möglich. (1)

Zwischen 11-72 % der Patienten mit einem ARDS versterben auf der Intensivstation. Daher ist es weiterhin wichtiger Gegenstand der aktuellen Forschung eine geeignete medikamentöse Therapie für das ARDS zu entwickeln. (3)

Die Zielsetzung dieser Arbeit ist die Untersuchung des Einflusses von Lidocain inhalativ (p.i) und intravenös (i.v.) auf das ARDS und damit verbunden die inflammatorischen Parameter beim experimentellen Lungenschaden im Tierversuch am Schwein. Mittels LPS wird ein künstliches ARDS erzeugt. Der Effekt von Lidocain wird anschließend intravenös und per Inhalation auf die Perfusion, Oxygenierung und die Inflammation der Lunge evaluiert.

Die Ergebnisse dieser zwei Randomisierungsgruppen (Lidocain i.v. und Lidocain p.i.) werden einer Kontrollgruppe (Gruppe 3 oder Shamgruppe) gegenübergestellt.

Es sollten folgende Fragen beantwortet werden:

Kann durch die Gabe von LPS ein geeignetes Tiermodell im Großtiermodell zur Erforschung des ARDS reproduziert werden?

Ist eine Evaluation des Effekts von Lidocain per Inhalation oder per Infusion auf ein experimentell induziertes Sepsis Modell am Schwein möglich?

Welchen Einfluss hat die Lidocaintherapie auf ein akutes Lungenversagen und die Lungenfunktion?

Welchen Einfluss hat die Lidocaintherapie auf die inflammatorische Antwort der Lunge im ARDS?

Welchen Einfluss hat die Lidocaintherapie auf den alveolären Lungenschaden?

3 Material und Methoden

3.1 Materialien

3.1.1 Monitoring und Geräte

- Absaugsystem (KATASPIR AC 809 AN, MEDUTEK Handelsgesellschaft für Medizintechnik GmbH)
- Beatmungsgerät mit FRC INview Modul (Engström Pro GE Healthcare, Chicago, US)
- Blutgasanalysator (ABL 90 Flex, Radiometer Medical Aps, Brønshøj, DK)
- Light-Cycler-System (Light-Cycler® 480, Roche Diagnostics, Rotkreuz, CH)
- Mastermill (Retsch MM 3000, Haan, DE)
- Mikrozentrifuge (MiniStar silverline VWR International)
- Mikroskop (Olympus CX43, Olympus Medical Care, Tokio, JP)
- Patientenwärmesystem (Warm Touch®, Tyco-Healthcare Group, Pleasonton, US)
- PCR Gerät (Eppendorf Mastercycler gradient, Eppendorf AG, DE)
- Pulse contour cardiac output System, PiCCO® (Pulsion Medical Systems, Feldkirchen, DE)
- Pulsoxymeter (Masimo FastSat Technology, Massimo Corporation, Irvine, US)
- Reagenzglas Schüttler, Vortex (Heidolph Instruments, Schwabach, DE)
- Spritzenpumpe Perfusor® fm (B.Braun AG, Melsungen, DE)
- Überwachungsmonitor Datex.Ohmeda S/5 (Planar Systems Inc., Beaverton, US)
- Ultraschallgerät (MicromMaxx, Sonosite, Bothell, US)
- Vernebler (Aeroneb ProX, Aerogen Ltd)
- Infusionspumpe Infusomat® (B. Braun AG, Melsungen, DE)
- Waage Sartorius 1407 (Sartorius Wägetechnik GmbH, Guxhagen, DE)

3.1.2 Medikamente und Infusionslösungen

- Atracurium (Atracurium-Hikma, Hikma Pharmaceuticals, PT)
- Azaperon (Stresnil®, Janssen-Cilag GmbH, Neuss, DE)
- Balancierte Elektrolytlösung (Sterofundin ISO, B. Braun Melsungen AG, DE)
- Escherichia coli serotype (LPS) O111:B4 (Sigma-Aldrich, Buchs, CH)
- Fentanyl (Fentanyl-Janssen, Janssen-Cilag GmbH, Neuss, DE)
- Gelafundin 4% Infusionslösung (B. Braun Melsungen AG, DE)
- Glucosteril 40% (Fresenius Kabi, Bad Homburg, DE)
- Heparin (Heparin-Natrium-25.000-ratiopharm, Ratiopharm GmbH, Ulm, DE)

- Inzolen® (Köhler Pharma GmbH, Alsbach-Hähnlein, DE)
- Kaliumchlorid 7,45% (B.Braun Melsungen AG, DE)
- Kolloidale Infusionslösung (Gelafundin® 4%, B.Braun Melsungen AG, DE)
- Midazolam (Midazolam-ratiopharm. Ratiopharm GmbH, Ulm Deutschland, DE)
- Norepinephrin - Arterenol® (Sanofi, Gentilly, FR)
- Propofol (Propofol®-Lipuro, B.Braun Melsungen AG, DE)

3.1.3 Verbrauchsmaterialien

- 5Fr. Pulmonalkatheter (Arrow International Inc., Reading, US)
- Bechergläser 50-500ml Schott Duran® (Duran Group bis 2017 jetzt DKW Life Science, Wertheim, DE)
- Blutentnahmeröhrchen S-Monovette® (Sarstedt AG + Co. KG, Nümbrecht, DE)
- Dreilumiger Zentraler Venenkatheter (Smiths medical Deltec LOGICATH 3 Lumen) Grasbrunn, DE)
- Desinfektionsmittel farblos (Schülke octeniderm farblos, Nordenstedt, DE)
- DNA-Lösung (Qiagen gDNA Eliminator Solution, Hilden, DE)
- Einmalkanülen in unterschiedlichen Größen (Steria Standardkanüle, B.Braun Melsungen AG)
- Einmalskalpelle (Feather Safety Razo Co., Ltd.)
- Einmalspritzen (1ml, 5ml, 10ml, 20ml Injekt Solo, B.Braun Melsungen AG)
- Einweghandschuhe Nitril NextGen® (Meditrade® GmbH Kiefersfelden, DE)
- EKG Elektroden (KENDALL® Einmal Elektrode, Covidien, Mansfield, US)
- Endotrachealtubus #7,0-7,5 (Lo-Contour Murphy, Mallinckrodt Medical, Staines-upon-Thames, GB)
- Filter (Millex-LH Filter, 0,45µm, hydrophil, Low Protein Binding Hydrophilic LCR (PTFE) Membran, Merck Millipore)
- Kompressen (MaiMed VK non sterile, Neuenkirchen, DE)
- Leitung für Perfusorspritzen 150cm, transparent (Original Perfusor-Leitung, B.Braun AG, Melsungen, DE)
- Lösungsmittel (Qiagen Lysis Reagent, Hilden, DE)
- Naht Monocryl 3-0 (Ethicon Monocryl™, St. Stevens, BE)
- Parafilm (Parafilm M®, Brand)
- Perfusorspritzen 50ml, transparent (Original-Perfusor-Spritze, B.Braun AG, Melsungen DE)

- Porcine TNF- α Quantikine ELISA Kit PTA00 (RND Systems Inc. Minneapolis, US)
- Porcine IL-6 Quantikine ELISA Kit P6000B (RND Systems Inc, Minneapolis, US)
- Puffer (Qiagen Buffer RPE/RWT, Hilden, DE)
- Reaktionsgefäße in unterschiedlichen Größen, (Eppendorf Safe-Lock, Eppendorf AG., Hamburg, DE)
- Schleusen 5Fr und 6Fr, 10cm (Radiofocus® Terumo Corporation, Elkton, US)
- Sterile Handschuhe
- TipOne® graduierte Pipettenspitzen (10 μ l, 200 μ l, 1000 μ l), (Starlab International GmbH, Hamburg, DE)
- Trennsäulen (Quiagen QIAshredder, Hilden, DE)
- Tubes (Qiagen Collection Tubes, Hilden, DE)
- Venenverweilkanüle (Vasofix®, B.Braun AG, Melsungen, DE)

3.1.4 Chemikalien und Reagenzien

- 2-Ethoxyethyl acetate (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Buchs, CH)
- Aqua dest. (B.Braun AG, Melsungen, DE)
- cDNA Synthese Set (QuantiTect® Reverse Transcription Kit, Qiagen GmbH, Venlo, NL)
- Enzymkit (QuantiTect® Reverse Transcription Kit, Qiagen GmbH, Venlo, NL)
- Ethanol absolute p.A. (AppliChem GmbH)
- Formaldehydlösung 4% (Roti®-Histofix 4%, säurefrei (pH7) – phosphatgepufferte Formaldehydlösung 4%, Carl Roth GmbH & Co. KG)
- PCR-grade Water (Roche Diagnostics, Rotkreuz, CH)
- qPCR Kit (Absolute Blue qPCR SYBR Green, Thermo Scientific)
- RNA Extraktionskit (RNeasy® Lipid Tissue Mini Kit, Qiagen GmbH, Venlo, NL)
- Stickstoff (Carl Roth GmbH & Co)
- Tween 80 (Sigma-Aldrich, St. Louis, US)

3.1.5 Software

- Light-Cycler Software, Version 1.5.1.62 (Roche Diagnostics Deutschland GmbH, DE)
- Microsoft Excel 2017 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, US)
- Microsoft Word 2017 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, US)
- SigmaPlot® (Software, San José, CA, US)

3.2 Methoden

3.2.1 Versuchstiere und Gruppeneinteilung

Tiermodelle schaffen die Möglichkeit, klinische Hypothesen an intakten biologischen Systemen zu testen ohne direkte Experimente an Menschen zu erproben. Zudem können Experimente an zellulären oder subzellulären Systemen in Studien auf Tiermodelle übertragen werden, um zu zeigen, dass das Konzept auf komplexe Lebewesen übertragbar ist. (35)

Aufgrund der limitierten Übertragbarkeit des Kleintiermodells auf den Menschen sowie der eingeschränkten apparativen Diagnostik wurde diese Arbeit unter der Leitung von Herr Prof. Dr. Hartmann und Herrn PD Dr. Alexander Ziebart am Großtiermodell durchgeführt.

Der Tierversuch werden unter der Antragsstellungsnummer ID G16-1-015 LUA Koblenz vom Landesuntersuchungsamt Rheinland-Pfalz genehmigt und durchgeführt. Es werden 24 männliche Schweine (Deutsche Landrasse x Durox x Pietrain) aus einem Zuchtbetrieb (Lindenhof B. Eisenmenger in Bubenheim) in den Versuch eingeschlossen. Es handelt sich hier um eine prospektive, randomisierte, nicht verblindete Studie. Die Tiere waren etwa zwei Monate alt und hatten ein Gewicht von 30 +/-3kg. Schweine sind international anerkannte und etablierte Modellorganismen in der biomedizinischen Forschung. Die menschenähnliche Anatomie und Physiologie des Hausschweins macht es möglich eine klinisch relevante Aussage der Ergebnisse zu erhalten. Ziel einer solchen Studie ist es die Behandlung der Menschen zu verbessern und Krankheitsverläufe abzumildern.

Durch die Gabe von Lipopolysacchariden wurde bei den in Narkose liegenden Tieren ein ARDS induziert. Es wurde initial eine Infusionsrate von 150µg/kg/h LPS über eine Stunde infundiert und anschließend wurde über die folgenden 8 Stunden eine LPS-Lauftrate von 15µg/kg/h infundiert.

- LPS Gruppe 1 (n=8): Lidocaingabe inhalativ (2mg/kg initial und danach 1mg/kgKG jede Stunde für die restlichen 7 Stunden Versuchsdauer)
- LPS Gruppe 2 (n=8); Lidocaingabe intravenös (2mg/kg initial und danach kontinuierliche Gabe von 1mg/kgKG für die restlichen 7 Stunden Versuchsdauer)
- Kontrollgruppe/Shamgruppe (n=8): äquivalente Gabe (ml) von 0,9% NaCl inhalativ

3.2.2 Versuchsaufbau und Versuchsablauf

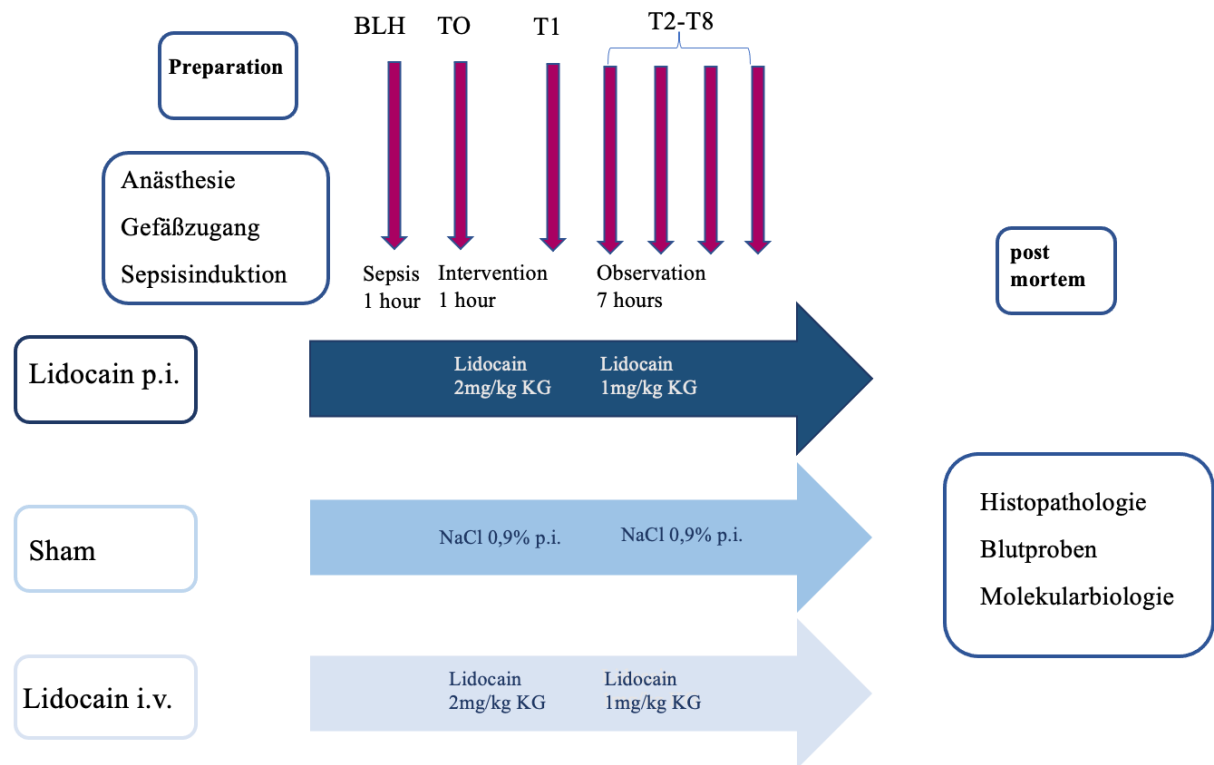


Abbildung 6: schematische Skizze des zeitlichen Ablaufs des Versuchs

In der Arbeitsgruppe, Labor für experimentelle Intensivmedizin der Universitätsmedizin Mainz der Klinik für Anästhesiologie, ist das Modell des Sepsis-induzierten Lungenversagens gut etabliert. (42) Die verwendeten Methoden können sowohl lungenprotektive oder anti-inflammatorische Wirkung von Inhalationstherapeutika in diesem Modell nachweisen.

Die schematische Skizze in Abb. 6 zeigt den zeitlichen Ablauf des Versuchs. Die Versuche wurden in den Jahren 2016 bis 2018 an der Klinik für Anästhesiologie der Universitätsmedizin Mainz durchgeführt. Permanente Messparameter während des Versuchs sind die pulmonale und hämodynamische Überwachung mittels S5 und Engstroem Beatmungsgerät. Zudem wird kontinuierlich die Temperatur mittels PiCCO gemessen. Repetitiv stündlich zu den einzelnen Messzeitpunkten wird mittels PiCCO das HZV bestimmt, eine arterielle BGA abgenommen und der Wedge Druck bestimmt. Zu den Messzeitpunkten BLH, also vor der Induktion des ARDS und zum Zeitpunkt T0, also nach der Induktion des ARDS und zusätzlich zu den Zeitpunkten T4 und T8 wird eine Blutabnahme zur Bestimmung des Blutbildes und der Laborparameter und der

Inflammationsparameter entnommen. Nach Beendigung des Versuchs und Euthanasie der Versuchstiere wird der Thorax eröffnet und es werden Herz und Lunge entnommen. Post mortem sind Proben aus der Lunge zur histopathologischen Untersuchung, zur molekularbiologischen Aufarbeitung mittels RT-PCR und zur Bestimmung des Wet-to-Dry Verhältnis entnommen worden.

3.2.3 Narkosevorbereitung, Narkoseeinleitung und Narkoseaufrechterhaltung

Die Schweine werden vom Zuchtbetrieb (Lindenhof B. Eisenmenger aus Bubenheim) mit einer Mischung aus Azaperon (Stresnil 4mg/kg), einem Neuroleptikum und Midazolam (Dormicum 4mg/kg) einem Benzodiazepin per intramuskulärer (i.m.) Injektion zur Stressabschirmung prämediziert. Anschließend wurden sie vom Züchter in Sedierung zum Labor nach Mainz transportiert. Nach der Anlieferung wird dem sedierten Tier mittels Venenverweilkanüle (Größe 20 Gauge oder 22 Gauge) an einer Ohrvene ein Medikamentenzugang etabliert. Anschließend wird das Tier zur Narkoseeinleitung in Seitenlage auf den Eingriffstisch gelegt und es wird ein Basismonitoring bestehend aus 3-Kanal EKG und Sauerstoffsättigungssensor am Schwanz des Schweins angeschlossen. Zudem wird das Tier mit 100% Sauerstoff präoxygeniert. Danach wird die intravenöse Anästhesieeinleitung mittels Fentanyl (4 µg/kg) und Propofol 1% (3-4 mg/kg) begonnen. Zur Muskelrelaxierung wird dem Schwein eine Einmaldosis Atracurium (0,5 mg/kg) verabreicht. Daraufhin kann es auf dem Rücken liegend endotracheal (Tubus MG #7,5) intubiert werden. Die Lagekontrolle erfolgte auskultatorisch und mittels Kapnometrie. Die Lungenprotektive Beatmung erfolgte volumenkontrolliert und zeitgesteuert (Engström Carestation, GE Healthcare).

- Atemfrequenz: 25/Minute bzw. variable Respiator Frequenz orientiert am endtidalem CO₂ (Zielwert etCO₂: 35-40 mmHg)
- Positiv endexpiratorischer Druck (PEEP): 5-15 mmHg
- Tidalvolumen: 6-7 ml/kg KG
- Zeitliches Verhältnis Inspiration: Expiration: 1:2
- Inspiratorische Sauerstofffraktion (FiO₂) 40%
- Beatmung Ziel SpO₂ > 93% (Eskalation der FiO₂ und Anpassung des PEEP)

Die Narkose wird mittels (TIVA) total intravenöse Anästhesie weitergeführt:

- Fentanyl: 8-12 µg/kg/h
- Propofol 2%: 5-10 mg/kg/h
- balancierte Elektrolytlösung: 5ml/kg/h ab Einleitung
- Gelafundin® 4% Infusionslösung: 10ml/kg/h über 2 Stunden nach LPS-Gabe und 4ml/kg/h für den restlichen Versuchsablauf

3.2.4 Instrumentierung

Nach der Narkoseeinleitung wird das Schwein intubiert und anschließend wird eine orale Magensonde platziert. Zudem wird ein weiterer intravenöser Zugang (Größe 14G-16G) an den Bauchvenen als Volumenzugang gelegt. Zum intraoperativen Monitoring werden dem Schwein weitere Katheter unter sterilen Kautelen in Seldinger-Technik und ultraschallgesteuert gelegt:

- *Arteria femoralis sinistra*: PiCCO Messung
- *Vena femoralis dextra*: dreilumiger ZVK
- *Vena femoralis sinistra*: PA-Katheter

Der arterielle Zugang wird zur kontinuierlichen Blutdruckmessung und zur invasiven Messung des Herzzeitvolumens mittels PiCCO verwendet. Der venöse Zugang an der Vena femoralis dextra wird als zentraler Venenkatheter (ZVK) gelegt, als Gegenstück für die PiCCO-Messung und zur Medikamentenapplikation. Über den zweiten venösen Zugang, an der Vena femoralis sinistra, wird eine 5 Fr. Schleuse zur Anlage eines Pulmonalarterienkatheters (PA-Katheter) gelegt. Zu Beginn der Einleitung und über den gesamten Versuchsablauf bekommt das Tier 5 ml/kg/h Sterofundin Lösung. Initial nach der LPS-Gabe wird dem Tier 10ml/kg/h Gelafundin 4% Infusionslösung, über zwei Stunden, zur Kompensation eines Flüssigkeitsdefizit infundiert. Danach wird eine Infusion von 4 ml/kg/h Gelafundin 4% verabreicht. Der MAD sollte sich über 60 mmHg befinden. Wird der mittlere arterielle Druck während der Versuchsdurchführung unterschritten, wird Noradrenalin 1:100 nach Bedarf gespritzt und mittels Perfusor kontinuierlich appliziert. Nach etwa 4-6 Stunden Versuchsdauer wird mittels Ultraschalles die Blase geschallt und bei Bedarf ein Blasenkateter suprapubisch mittels 16G Braunüle gelegt, um die gefüllte Blase zu entlasten.

3.2.5 Referenzblutwerte von Hausschweinen

In der Veterinärmedizin haben die labordiagnostischen Möglichkeiten in den letzten Jahrzehnten eine große Bedeutung gewonnen. Für die Beurteilung der labortechnischen Untersuchungen sind entsprechende Referenzwerte nötig. Es gibt vielerlei Faktoren, die Einfluss nehmen können auf die Blutinhaltsstoffe der tierischen Probanden. Hierzu zählen z.B. das Geschlecht, das Alter, die Haltung, die Fütterung und die Rasse der Tiere. Diese Blutreferenzwerte können für eine Studie, wie die hiervorliegende, ebenfalls hilfreich für die Auswertung der Blutwerte und der Blutgasanalyse sein.

Tabelle 2: Referenzblutwerte des Hausschweins (Quelle: Universität Leipzig, Medizinische Tierklinik, Klinik für innere Krankheiten der Pferde, Wiederkäuer und Schweine)

Referenzwert	Hausschwein
Hämatokrit (%)	0,36 - 0,47
Erythrozyten (T/l)	4,6 - 7,0
Hämoglobin (mmol/l)	6,3 - 9,0
Eisen ($\mu\text{mol/l}$)	18 - 35
Leukozyten (g/l)	8,2 - 17,0
Thrombozyten (g/l)	220 - 620
Kreatinin (mmol/l)	67 - 172
Harnstoff (mmol/l)	< 6,7
Laktat (IU/l)	361 - 705

3.2.6 Induktion des ARDS

Nach Abschluss der Instrumentierung erfolgt eine 30-minütige Stabilisierungsphase. Danach werden alle Ausgangswerte als Baseline Healthy (BLH), z.B. HZV mittels PiCCO-Systems, alle Vitalwerte auf dem S5 Monitor und alle Beatmungsparameter auf der Engstroem Carestation aufgezeichnet und auf den PC in den Masterfile übertragen. Zudem werden mehrere Blutröhrchen für das Zentrallabor und eine Blutgasanalyse (BGA) entnommen.

Danach wurde mit der kontinuierlichen Infusion von 150 $\mu\text{g/kg/h}$ LPS (Lipopolysaccharid vom Typ Ecoli Serotyp O111:B4) über eine Stunde begonnen. Anschließend wurde die LPS-Gabe über 8 Stunden mit einer Laufrate von 15 $\mu\text{g/kg/h}$ aufrechterhalten. Nach 4 Stunden und nach 8 Stunden der Induktion des ARDS werden erneut Blutröhrchen abgenommen.

Das Behandlungsprotokoll richtet sich nach der intensivmedizinischen Empfehlung der Therapie des ARDS. Eine Sauerstoffsättigung von 94-98% ist anzustreben. PEEP und FiO₂ werden entsprechend der Tabelle 3 nach der ALVEOLI Studie des ARDS-Network zur Optimierung der Sauerstoffsättigung angepasst. (43) Ausgangswerte sind eine FiO₂ von 0,4 und ein PEEP von 5 cmH₂O.

Tabelle 3: FiO₂/PEEP Anpassung nach der ALVEOLI Studie des ARDS Network (43)

FiO₂	0,4	0,4	0,5	0,5	0,6	0,7	0,7
PEEP	5	8	8	10	10	10	12
FiO₂	0,7	0,8	0,9	0,9	0,9	1,0	
PEEP	14	14	14	16	18	18-24	

3.2.7 Inhalation von Lidocain

Nach der Induktion des ARDS (T0) wird der Versuch für 8 Stunden weiter beobachtet. Eine Stunde, nach Beginn der Induktion, wird zum Messzeitpunkt T1 mit der Lidocaintherapie begonnen. Bei der Randomisierungsgruppe 1 (Lidocain p.i.) wird Lidocain mit einer Dosierung von 2mg pro kg Körpergewicht über den Aeronab Anschluss über den Tubus vernebelt. Zu jedem weiteren Messzeitpunkt von T2-T8 wird 1mg/kgKG Lidocain vernebelt.

3.2.8 Intravenöse Gabe von Lidocain

Nach der Induktion des ARDS wird die Lidocaintherapie zum Messzeitpunkt T1 mit 2mg/kgKG intravenös begonnen. Zu jedem weiteren Messzeitpunkt von T2-T8 wird 1mg/kgKG Lidocain intravenös kontinuierlich appliziert.

3.2.9 PiCCO

Das PiCCO (Pulse index Continuous Cardiac Output) System ist eine transcardiopulmonale Messmethode zur invasiven Messung des Herzzeitvolumens und wird vorwiegend auf der Intensivstation angewendet. Der Messmethode zu Grunde liegen zwei Prinzipien. Einmal die transpulmonale Thermodilution und die Pulskonturanalyse.

Für die Messung werden zwei Zugänge benötigt. Ein standardmäßiger ZVK in der Vena cava superior oder Vena cava inferior und ein arterieller Zugang, in dem der PiCCO Katheter zum Liegen kommt. (siehe Abb. 7)

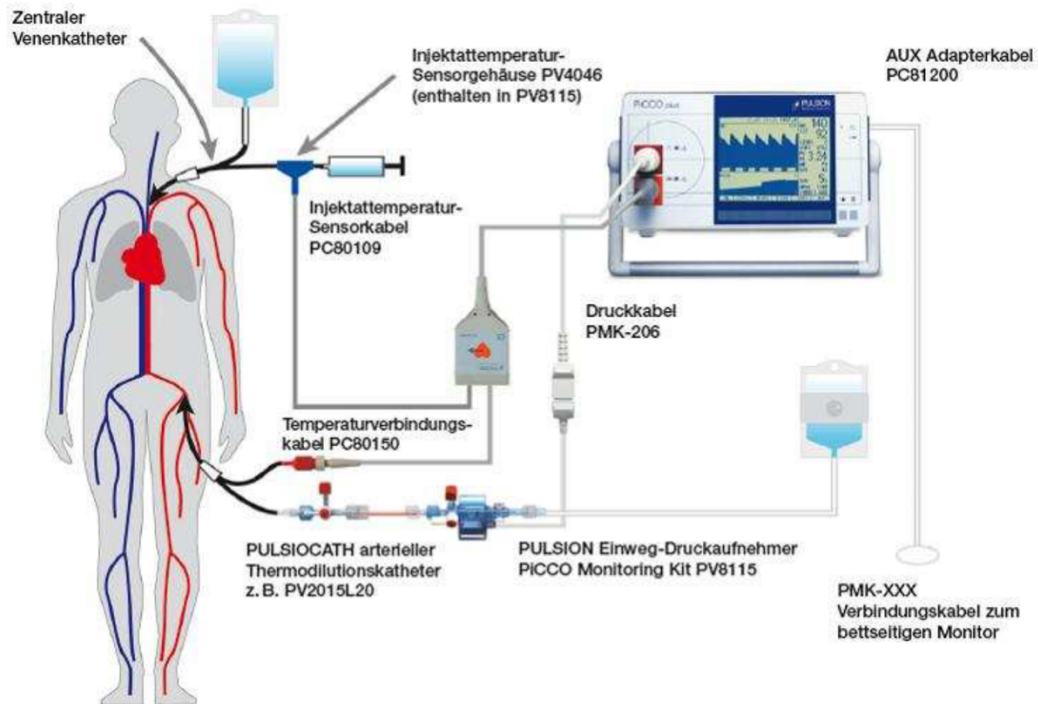


Abbildung 7: PiCCO System (Quelle: Fa. Pulsion)

Zur Messung wird ein vordefiniertes Volumen, z.B. 10ml gekühlte (10°C) isotonische Kristalloidlösung, über einen ZVK innerhalb von 4 Sekunden injiziert. Dies wird zur Validierung dreimal wiederholt und aus den Ergebnissen der Mittelwert gebildet. Der Kältebolus wandert durch das rechte Herz (RA und RV), durch die Lungenstrombahn und das linke Herz (LA und LV) und wird über einen Thermistorkatheter des arteriellen Zugangs erfasst. Dadurch wird eine Thermodilutionskurve aufgezeichnet. Das Herzzeitvolumen wird mittels Stewart-Hamilton-Gleichung aus der Fläche unter der Kurve ermittelt. Zudem kann das extravaskuläre Lungenwasser (EVLW) berechnet werden, welches als Verlaufsparemeter eines Lungenödems verwendet werden kann.

Der größte potenzielle Vorteil des PiCCO Systems ist die kontinuierliche Messbarkeit und Abbildung vieler hämodynamischer Parameter im Vergleich zu anderen Devices (z.B. PA-Katheter oder transösophageale Echokardiographie.) Es ist ein positives Nutzen und ein besseres klinisches Outcome nach der Anwendung des PiCCO Systems in klinischen Studien nachgewiesen worden. (44)

3.2.10 FRC – funktionelle Residualkapazität

Die Funktionelle Residualkapazität (FRC) ist die Summe aus Reservevolumen und des expiratorischen Residualvolumens, welches nach einer normalen Expiration in Ruhe in der Lunge verbleibt. (siehe Abb. 8) Normwerte für die FRC sind 2,5-3,0 Liter. (12) Die FRC

entspricht etwa 40% der Totalkapazität. Die FRC verhindert, dass die Alveolen bei der Ausatmung kollabieren, und ist im Stehen größer als im Liegen. Nach Einleitung einer Narkose nimmt die FRC nach wenigen Minuten um etwa 20-30% ab, da der Tonus des Zwerchfells abnimmt und das Zwerchfell nach kranial höhertritt. Um die FRC während der Narkose aber auch therapeutisch auf der Intensivstation aufrecht zu erhalten, kann ein PEEP während der Beatmungstherapie angewendet werden. (11)

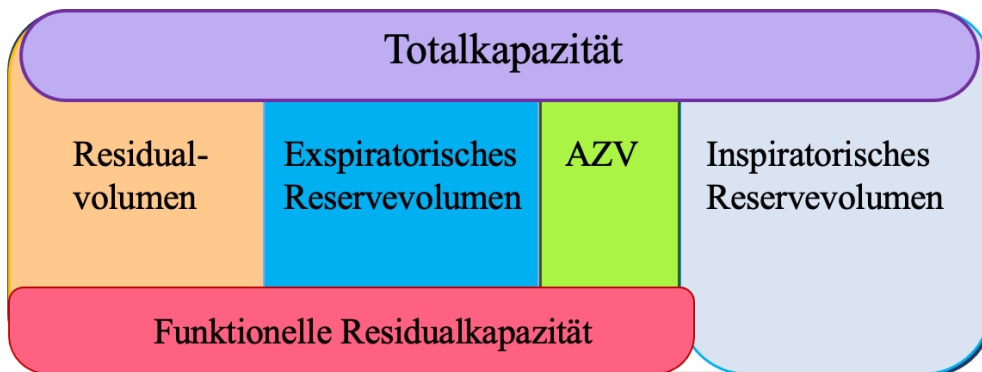


Abbildung 8: Darstellung der Lungenvolumina

3.2.11 Organentnahme und Aufbewahrung

Nach Versuchsende wurde dem Versuchstier 200mg Propofol 2% intravenös verabreicht, um eine tiefe Narkose sicherzustellen. Anschließend wird das Schwein, mit 40ml Kaliumchlorid 7,45% intravenös, euthanasiert. Der Thorax wird am Unterrand des Sternums eröffnet und dann V-förmig, sternumnah die Rippenknorpel durchgeschnitten. Dann werden manuell vorsichtig die Lungenunterlappen abpräpariert. Anschließend werden die Vena cava inferior, die Aorta thoracalis und der Ösophagus abgeklemmt und dann abgeschnitten. Zum Schluss wird der Tubus ein kleines Stück zurückgezogen, die Trachea unterhalb abgeklemmt und danach durchgeschnitten. Zur besseren Beurteilung werden Herz und Lunge en bloc und unter kontinuierlichem PEEP entnommen. Erst extrathorakal werden Herz und Lunge voneinander getrennt. Die gesamte Lunge wird für die makroskopische Auswertung fotografiert und es werden Proben, aus Ober- und Unterlappen des linken Lungenflügels von ventral und dorsal, für die histologische Auswertung entnommen und anschließend in Formalin fixiert. Zudem werden kleine, etwa 2x2x2mm große Proben herausgeschnitten und in Eppendorf-Gefäße gegeben und sofort auf Stickstoffschockgefroren. Im Anschluss werden die Lungenproben im Gefrierschrank bei -20°C gelagert, bis diese molekularbiologisch weiterverarbeitet werden. Der rechte

Lungenoberlappen wird für das „Wet-to-Dry-Verhältnis“ gewogen und 48 Stunden bei 70°Grad im Inkubator getrocknet.

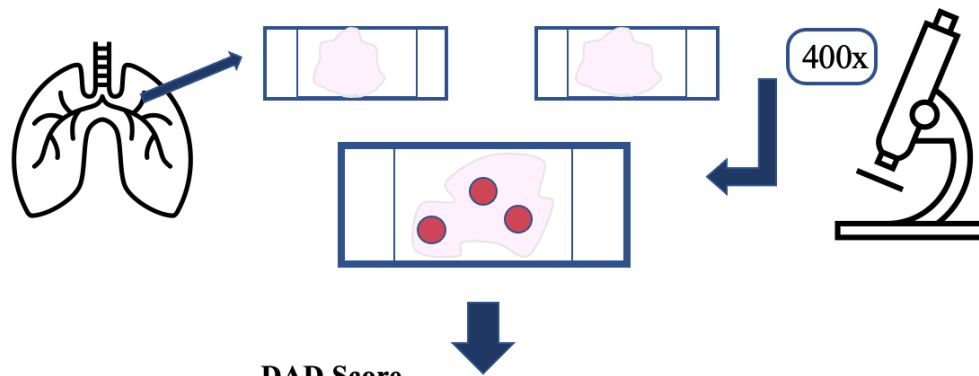
3.2.12 Makroskopische Analyse

Die Lunge wurde nach der Eröffnung des Thorax mit dem aktuellen anliegenden PEEP (Positive EndExpiratory Pressure) abgeklemmt. Anschließend wurden Herz und Lunge en-bloc reseziert. Der makroskopische Lungenschadensscore basiert auf der makroskopischen Betrachtung der Lungenoberfläche und Auswertung von Atelektasen und Hämorrhagie. Dafür wird die Lunge in vier Abschnitte unterteilt und jeweils von dorsal und ventral betrachtet. Für Hämorrhagie und Atelektasen auf mehr als 50% der Oberfläche gibt es zwei Punkte. Für Hämorrhagie und Atelektasen auf weniger als 50% der Lungenoberfläche wird ein Punkt vergeben. 0 Punkte gibt es für keine oder nur minimale Blutungen. Daraus ergibt sich eine maximale Punktzahl von 16 Punkten. (45)

3.2.13 Histologische Analyse

Nach der Euthanasie der Versuchstiere wurden Lunge und Herz in einem Stück entnommen. Für die histologische Analyse wurden aus dem linken Ober- und Unterlappen von dorsal und ventral Gewebe zur Schnittherstellung in HE-Färbung entnommen und in Formalin fixiert. Die histologische Analyse hilft den Lungenschaden zu detektieren und zu quantifizieren. Die Herstellung der histologischen Feinschnitte, sowie die Färbung mit Hämatoxylin/Eosin (HE-Färbung) erfolgte, in Zusammenarbeit mit Dr. Arno Schad und dem Institut für Pathologie der Universitätsmedizin Mainz. (HE Färbe Protokoll siehe Anhang)

Die Lungenschnitte wurden unter dem Mikroskop bei 400-facher Vergrößerung betrachtet und bewertet. (Auswertungstabelle siehe Anhang) Jeder histologische Schnitt wurde in vier sich nicht überlappende Mikroskopiefelder (Regions Of Interest = ROIs) eingeteilt und bewertet. Ebenso wurde der Schnitt in einer Gesamtübersicht bewertet. Dabei wurden die Randbereiche der Gewebeschnitte gemieden, da es an diesen Stellen präparationsbedingt gehäuft zur Verdichtung des Lungengewebes kommen kann und somit Atelektasen vorgetäuscht werden können.



DAD Score

- 1) Mikroatektasen
- 2) Barotrauma
- 3) alveolares Ödem
- 4) interstitielles Ödem
- 5) Hämorrhagie
- 6) Inflammation
- 7) epitheliale Destruktion

Bewertung = 0-5 Punkte pro Kriterium

Score = Addition von 1) - 7) plus Gesamtübersicht



= 0-175



= Mittelwert und Median aus 4 Histoschnitten derselben Lunge

Abbildung 9: schematische Darstellung der Auswertung der histologischen Schnitte

Die histologische Analyse erfolgte, durch einen verblindeten Untersucher, gemäß eines etablierten und standardisierten Schadenscores (Diffuse Alveolar Damage Score - DAD Score) mit sieben histopathologischen Kriterien: Mikroatektasen (kollabierte Alveoli), Barotrauma, Alveolarödem, interstitielles Ödem (Verbreiterung der Interlobarsepten), Hämorrhagie, entzündliche Infiltration (Inflammation), epitheliale Destruktion. (46) Diese einzelnen Aspekte werden von 0 – 5 bewertet. Dabei bedeutet:

0 = eine vollkommene Absenz

1 = eine Beteiligung von bis zu 25%

2 = eine Beteiligung von 26-50%

3 = eine Beteiligung von 51-75%

4 = eine Beteiligung von 75% bis 100%

5 = eine Beteiligung von 100%

Aus diesen Einzelwerten ergibt sich eine Punktzahl von 0-35 pro histopathologischem Kriterium (z.B. Alveolarödem). Rechnet man zu dieser die Punktzahl der Gesamtübersicht des Schnittes hinzu, ergibt sich ein Gesamtwert von 0 – 175. (siehe Abb. 9)

3.2.14 Molekularbiologie

Die Molekularbiologische Auswertung der Versuche erfolgt mittels Real-Time Polymerasekettenreaktion (rt-PCR), die mRNA-Expression der inflammatorischen Schlüsselmediatoren (exemplarisch in diesem Versuch TNF- α und IL-6) quantifiziert. Die Real-Time-PCR ist eine etablierte Methode zur Nukleinsäure Quantifizierung und Gensequenzanalyse. Zudem stellt die rt-PCR die sensitivste Methode zur Detektion von cDNA dar. Für die Detektion von Zytokin mRNA in diesem Versuch, ist dies von großer Bedeutung, da Zytokin mRNA nur in sehr geringen Mengen exprimiert wird.

Die Polymerasekettenreaktion wurde 1983 von Kary Mullis entwickelt und zählt heutzutage zu den wichtigsten, modernen molekularbiologischen Testmethoden. Das Prinzip der Real-Time-PCR hat sich seit Beginn der Etablierung dieser Methode in den neunziger Jahren kaum verändert.

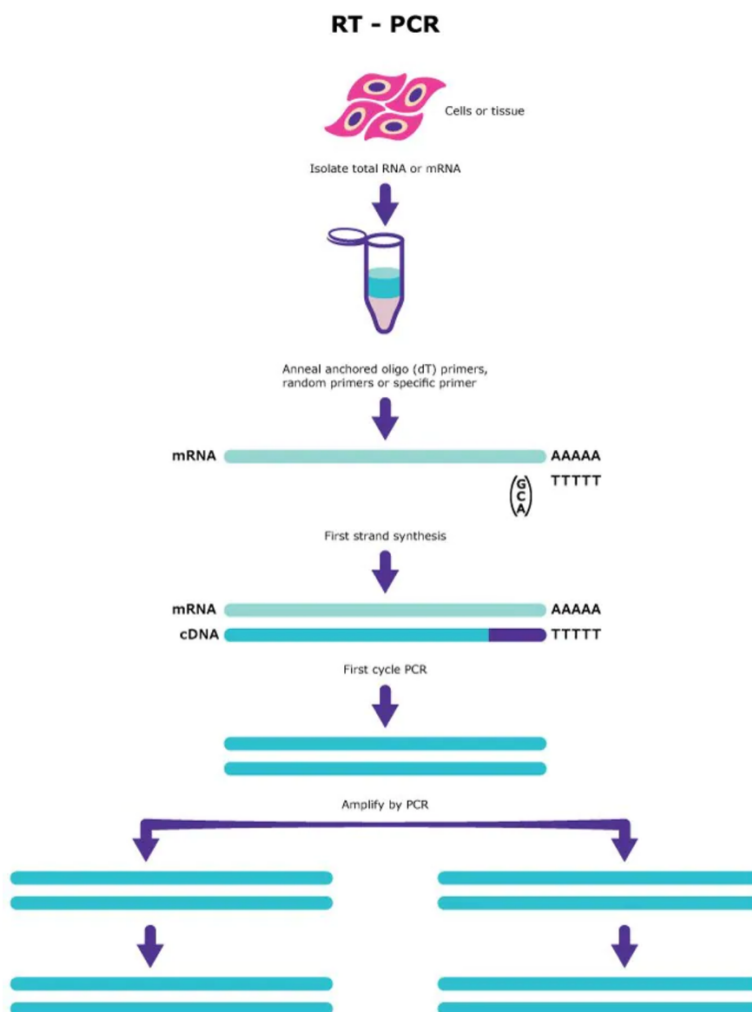


Abbildung 10: Real-Time Polymerase Kettenreaktion (Quelle: <https://www.sigmaldrich.com>)

Um die entnommenen Gewebe molekularbiologisch untersuchen zu können, muss zuerst eine RNA (Ribonukleinsäure) Extraktion durchgeführt werden. Die RNA-Extraktion erfolgt nach einem etablierten Protokoll (Quiagen-RNeasyMini Kit) (siehe Anhang). Am Ende der RNA-Extraktion entstehen Eluate, die auf ihre RNA-Konzentration hin bestimmt werden. Anschließend erfolgte die Lagerung der Proben bei -80°C . Zum Nachweis der gesuchten Zielgene erfolgte die Anlage einer cDNA-Bibliothek der eluierten RNA der Lungenproben. Die gesamte RNA kann durch eine reverse Transkriptase in cDNA überschrieben werden. Die cDNA-Synthese wurde nach einem bereits etablierten Protokoll mit Hilfe des Quiagen QuantiTect Reverse Transcriptase Kits durchgeführt. Aus der cDNA können im Anschluss mittels PCR (polymerase chain reaction) einzelne gewünschte Gene amplifiziert und quantitativ nachgewiesen werden. Hierfür wurde auf der zuvor entstandenen cDNA zunächst Anfang und Ende des zu vervielfältigenden Bereichs markiert. Diese Hybridisierungssonden bestehen aus komplementären Oligonukleotidfrequenzen, die für die jeweiligen Zielgene spezifisch sind. Diese Markierung erfolgt mithilfe von Fluoreszenzfarbstoff versehenen Primern. Durch Fluoreszenzfarbstoff-markierte-Sonden kommt es zur Detektion der PCR-Produkt Akkumulation. Diese Methode erlaubt es in Echtzeit (real-time) die quantitative Menge an PCR-Produkt abzulesen.

3.2.15 Wet-to-Dry Verhältnis

Nach der Beendigung des Versuchs und Euthanasie des Versuchstieres wurden Lunge und Herz in einem Stück entnommen. Nach der Organentnahme wurde der rechte Lungenoberlappen (OL) abgetrennt und auf einer Präzisionswaage gewogen. Nach der Bestimmung des Nassgewichts ($\text{weight}_{\text{wet}}$) wird die Lungenprobe auf einer metallischen Nierenschale in einer Trockenkammer (Inkubator) bei 70°C für 48h getrocknet. Nach den 48h wird die Lungenprobe des rechten Oberlappens erneut auf der Präzisionswaage gewogen ($\text{weight}_{\text{dry}}$). Aus den gemessenen Werten wird dann die Wet-to-Dry Ratio (W/D Ratio) bestimmt. Das Wet-to-Dry Verhältnis ist ein Parameter zur Beurteilung für die Wasseransammlung in der Lunge und dient somit der Bewertung des Schweregrades eines Lungenödems.

4 Ergebnisse

4.1 Vitalwerte

Tabelle 4: tabellarische Übersicht über die Vitalparameter im Gruppenvergleich

Parameter	Group	BLH	T0	T4	T8
		MEAN (SD)	MEAN (SD)	MEAN (SD)	MEAN (SD)
MAP [mmHg]	Lidocain p.i.	66,94 (8,5)	69,81 (7,1)	64,9 (5,3)	62,28 (3,7)
	Lidocain i.v.	67,040 (8,6)	67,495 (6,5)	60,85 (4,0)	61,17 (54,9)
	Sham	63,04 (7,7)	71,93 (8,4)	65,11 (5,1)	60,49 (7,2)
HR [min ⁻¹]	Lidocain p.i.	77,0 (11,1)	79,88 (12,6)	131,75 (13,1)*	149 (17,5)*
	Lidocain i.v.	88,5 (15,2)	82,0 (12,8)	120,0 (41,7)*	144,0 (37,3)*
	Sham	74,5 (8,9)	75,25 (11,3)	125 (17,5)*	147 (14,9)*
mPAP [mmHg]	Lidocain p.i.	8,38 (0,5)	9,38 (1,5)	13,75 (4,09)	15,38 (3,2)
	Lidocain i.v.	7,5 (0,9)	8 (1,2)	10 (3,4)	12 0 (2,4)
	Sham	8 (0,6)	9 (0,7)	11 (2,4)	14 (3,4)
CVP [mmHg]	Lidocain p.i.	4,88 (1,4)	7,25 (2,3)	7,25 (2,6)	8,88 (3,4)
	Lidocain i.v.	6 (1,9)	8 (1,8)	9,5 (1,3)	10 (2,1)
	Sham	6 (2,4)	9 (2,5)	9 (2,7)	10,25 (3,3)
CO [l min ⁻¹]	Lidocain p.i.	66,94 (8,6)	69,81 (7,1)	64,89 (5,3)	62,28 (3,7)
	Lidocain i.v.	3,59 (0,4)	3,66 (0,8)	5,22 (0,9)	6,68 (1,2)
	Sham	63,04 (7,7)	71,93 (8,4)	65,11 (5,1)	60,49 (7,2)
PCWP [mmHg]	Lidocain p.i.	7,83 (2,1)	8,86 (1,9)	7 (2,9)	5 (4,2)
	Lidocain i.v.	10,0 (2,5)	10,0 (2,0)	9,0 (3,7)	10,0 (3,6)
	Sham	7 (2,5)	11 (2,1)	9 (2,5)	10 (2,8)
GEDVI [ml m ⁻²]	Lidocain p.i.	486,25 (97,4)	519,38 (116,7)	502,38 (105,9)	496 (96,6)
	Lidocain i.v.	524,5 (73,1)	565,5 (138,6)	521,5 (90,4)	568,0 (136,9)
	Sham	490 (75,7)	523 (96,3)	503 (105,6)	535 (115,5)
EVLWI [ml kg ⁻¹]	Lidocain p.i.	10,88 (1,6)	12,38 (1,9)	15,25 (2,1)	16 (3,2)
	Lidocain i.v.	11,5 (2,4)	12,0 (3,5)	15,0 (2,7)	16,0 (2,3)
	Sham	11,5 (2,4)	12 (1,2)	14,75 (1,8)	15 (2,4)

ScO₂ [%]	Lidocain p.i.	100 (0,00)	99,93 (0,18)	95 (4,29)	94 (5,54)
	Lidocain i.v.	100,0 (0,0)	100,0 (0,1)	99,7 (1,7)	96,7 (3,4)
	Sham	100 (0,00)	100 (0,07)	98,6 (3,38)	93,9 (3,7)

*indicates p<0.05 vs. Baseline value. # indicates p< 0.05 in intergroup comparison

MAP: mean arterial pressure; **HR:** heart rate; **mPAP:** mean arterial pulmonary pressure; **CO:** cardiac output; **PCWP:** pulmonary capillary wedge pressure; **GEDVI:** global end-diastolic volume index; **EVLWI:** end-diastolic lung water index; **CVP:** central venous pressure; **ScO₂:** cerebral oxygen saturation

4.2 Blutgasanalyseparameter

Tabelle 5: tabellarische Übersicht über die Blutgasanalyseparameter im Gruppenvergleich

Parameter	Group	BLH	T0	T4	T8
		MEAN (SD)	MEAN (SD)	MEAN (SD)	MEAN (SD)
pH	Lidocain p.i.	7,50 (0,02)	7,477 (0,04)	7,4 (0,07)	7,374 (0,05)
	Lidocain i.v.	7,53 (0,04)	7,48 (0,01)	7,38 (0,06)	7,40 (0,04)
	Sham	7,464 (0,07)	7,474 (0,03)	7,396 (0,09)	7,382 (0,09)
BE [mmol l ⁻¹]	Lidocain p.i.	4,363 (2,1)	4,913 (1,4)	1,788 (1,9)	1,3 (2,7)
	Lidocain i.v.	5,35 (2,4)	4,6 (1,9)	0,7 (2,6)	1,4 (1,6)
	Sham	3 (2,9)	3,775 (1,9)	-1,63 (4,3)	1,275 (4,1)
paCO₂ [mmHg]	Lidocain p.i.	35 (2,5)	39 (3,4)	44 (6,8)	49 (7,3)
	Lidocain i.v.	34,7 (1,6)	37,5 (2,2)	42,8 (5,6)	44,25 (4,8)
	Sham	37 (4,5)	38 (1,5)	42 (6,4)	46 (5,9)
PaO₂ [mmHg]	Lidocain p.i.	204 (17,9)	178 (36,6)	93 (25,1)	76 (17,5)
	Lidocain i.v.	215 (21,0)	199,0 (29,5)	126,5 (29,9)	78,9 (29,1)
	Sham	202 (17,7)	186 (22,1)	101 (23,9)	81 (12,7)
Potassium [mmol l ⁻¹]	Lidocain p.i.	3,8 (0,31)	4,1 (0,46)	4,8 (0,48)	4,9 (0,64)
	Lidocain i.v.	3,75 (0,2)	3,85 (0,3)	4,2 (0,3)	4,5 (0,5)
	Sham	3,8 (0,41)	4,1 (0,32)	4,3 (0,53)	4,6 (0,6)
Lactat [mmol l ⁻¹]	Lidocain p.i.	1,4 (1,2)	1,6 (0,5)	2,8 (1,0)	1,5 (1,0)
	Lidocain i.v.	0,9 (0,5)	1,5 (0,6)	2,8 (2,3)	1,9 (5,1)
	Sham	1 (0,3)	1,4 (0,6)	2,6 (0,8)	1,7 (0,8)
*indicates p<0.05 vs. Baseline value. # indicates p< 0.05 in intergroup comparison					
BE: base excess; PaCO ₂ : arterial carbon dioxide; PaO ₂ : arterial oxygen					

4.3 Beatmungsparameter

Tabelle 6: tabellarische Auflistung der Ventilationsparameter im Gruppenvergleich

Parameter	Group	BLH	T0	T4	T8
		MEAN (SD)	MEAN (SD)	MEAN (SD)	MEAN (SD)
SpO₂ [%]	Lidocain p.i.	98,5 (1,3)	97,5 (2,7)	95,5 (2,4)	94,5 (2,2)
	Lidocain i.v.	99,5 (1,1)	99,5 (2,4)	98,5 (2,9)	96 (1,8)
	Sham	99 (1,3)	98,25 (2,1)	97 (2,6)	94,5 (2,7)
FiO₂ [%]	Lidocain p.i.	0,4 (0,0)	0,4 (0,0)	0,463 (1,4)	0,5 (0,1)
	Lidocain i.v.	0,4 (0,0)	0,4 (0,0)	0,4 (0,1)	0,4 (1,2)
	Sham	0,4 (0,0)	0,4 (0,0)	0,4 (0,1)	0,45 (0,1)
PaO₂/FiO₂ [mmHg]	Lidocain p.i.	510,63 (44,7)	445,31 (91,6)	213,73 (80,7)	148,55 (63,1)
	Lidocain i.v.	517,5 (52,6)	463,56 (79,9)	295,54 (87,09)	217,83 (84,34)
	Sham	504,38 (44,3)	463,75 (55,3)	238,88 (60,5)	170,39 (41,969)
FRC [ml]	Lidocain p.i.	575,6 (190,9)	520,3 (172,7)	308,8 (191,7)	543,5 (202,4)
	Lidocain i.v.	653,1 (195,9)	570,2 (197,4)	487,8 (175,2)	423,8 (123,9)
	Sham	574,8 (524)	515,6 (522)		393 (178)
MV [l min ⁻¹]	Lidocain p.i.	6,4 (1,0)	6,59 (0,9)	7,35 (0,7)	8,35 (0,8)
	Lidocain i.v.	6,2 (0,6)	6,1 (0,6)	7,2 (1,1)	7,6 (1,3)
	Sham	6,5 (0,6)	6,6 (0,6)	7,3 (1,2)	7,8 (1,0)
Ppeak [mbar]	Lidocain p.i.	15,38 (2,4)	19,0 (3,8)	29,5 (7,0)	30,0 (4,9)
	Lidocain i.v.				
	Sham	14,25 (1,9)	17,0 (2,8)	24,25 (4,1)	28,0 (4,6)
Pmean [mbar]	Lidocain p.i.	8,38 (0,5)	9,38 (1,5)	13,75 (4,1)	15,5 (3,2)
	Lidocain i.v.	7,75 (0,9)	8,63 (1,2)	11,63 (3,4)	11,86 (2,4)
	Sham	8,0 (0,6)	9,0 (0,8)	11,0 (2,4)	14,00 (3,4)
PEEP [cm H ₂ O]	Lidocain p.i.	5 (0,0)	5 (0,0)	6,75 (3,3)	8,75 (2,3)
	Lidocain i.v.	4,5 (0,8)	4,6 (0,5)	6,1 (3,2)	6,4 (1,9)
	Sham	5 (0,0)	4,75 (0,5)	5 (2,2)	7,75 (2,9)

*indicates p<0.05 vs. Baseline value. # indicates p< 0.05 in intergroup comparison

S_pO₂: oxygen saturation; **PaO₂**: arterial oxygen; **FiO₂**: fraction of inspired oxygen; **PaO₂/FiO₂**: oxygen index; **FRC**: fraction of inspired oxygen; **MV**: minute volume; **Ppeak**: peak inspiratory pressure; **Pmean**: mean airway pressure; **PEEP**: positive end-expiratory pressure

4.4 Laborparameter

Tabelle 7: tabellarische Auflistung der Laborparameter im Gruppenvergleich

Parameter	Group	BLH MEAN (SD)	T4 MEAN (SD)	T8 MEAN (SD)
Hämoglobin [g/dl]	Lidocain p.i.	9,64 (0,59)	10,03 (0,95)	9,3 (1,16)
	Lidocain i.v.	9,28 (0,57)	9,28 (0,56)	9,11 (0,79)
	Sham	9,23 (0,62)	9,78 (0,60)	9,54 (1,02)
Leukozyten [μ l]	Lidocain p.i.	17,11 (5,29)	1,59 (0,70)	2,99 (1,77)
	Lidocain i.v.	12,652 (4,37)	1,143 (0,28)	2,131 (0,49)
	Sham	13,41 (3,99)	1,129 (0,19)	2,37 (1,15)
Thrombozyten [G/l]	Lidocain p.i.	338,63 (54,87)	149,12 (57,65)	112,88 (48,69)
	Lidocain i.v.	358,25 (43,86)	180,88 (41,33)	156,63 (46,91)
	Sham	380,75 (111,76)	188,5 (42,36)	167,75 (42,49)

4.4.1 Herzfrequenz

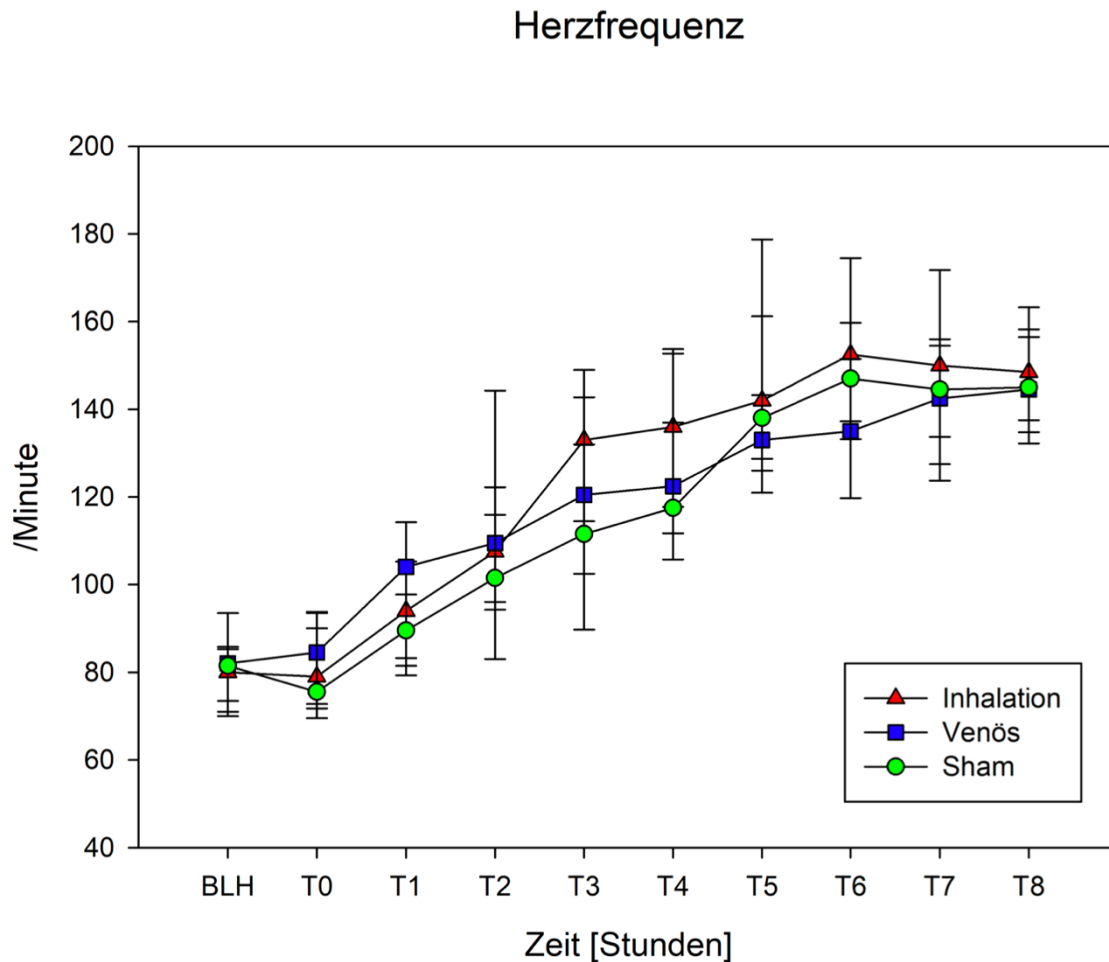


Abbildung 11: graphische Darstellung der Herzfrequenz im Gruppenvergleich zu den verschiedenen Messzeitpunkten als Mittelwerte +/- Standardabweichung

In der obenstehenden Graphik (Abb. 11) sind die Werte der Herzfrequenz im Gruppenvergleich als Mittelwerte plus/minus Standardabweichung zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten aufgetragen. Die Herzfrequenz unterscheidet sich nicht signifikant zu Beginn (BLH) des Versuchs. Im weiteren Verlauf erkennt man in der Graphik einen signifikanten Anstieg der Herzfrequenz in allen drei Gruppen ($p < 0,001$) bei T4 und T8, nach der ARDS-Induktion.

4.4.2 MAD – mittlerer arterieller Druck

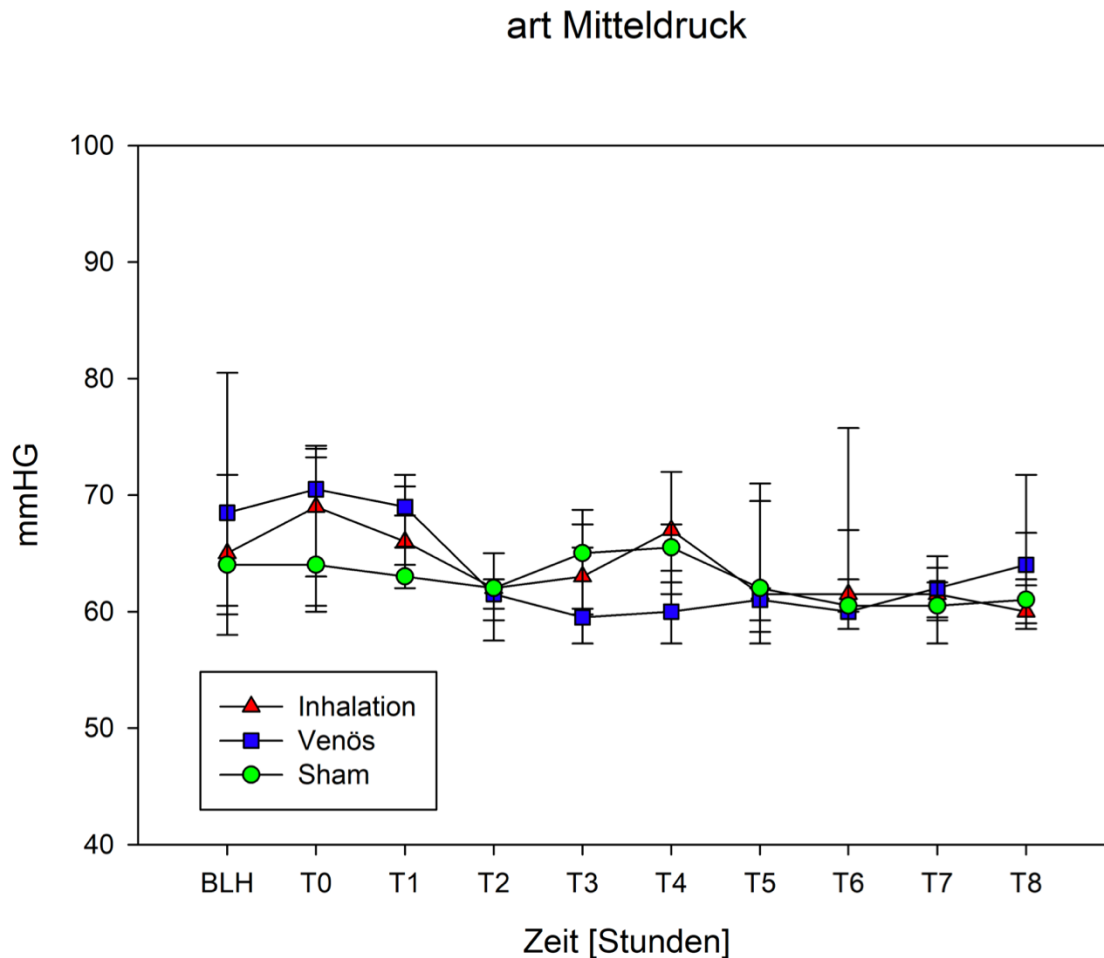


Abbildung 12: graphische Darstellung des mittleren arteriellen Drucks (MAD) im Gruppenvergleich zu den verschiedenen Messpunkten als Mittelwerte +/- Standardabweichung

In der vorliegenden Graphik (Abb. 12) sind die Werte des mittleren arteriellen Drucks (MAD) im Gruppenvergleich als Mittelwerte plus/minus Standardabweichung dargestellt. Es zeigt sich über die gesamte Versuchsdauer kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Versuchsgruppen ($p > 0,05$). Die Versuchsgruppen konnten über den gesamten Versuchszeitraum im geplanten Blutdruckbereich gehalten werden.

4.4.3 Arterenol Laufrate

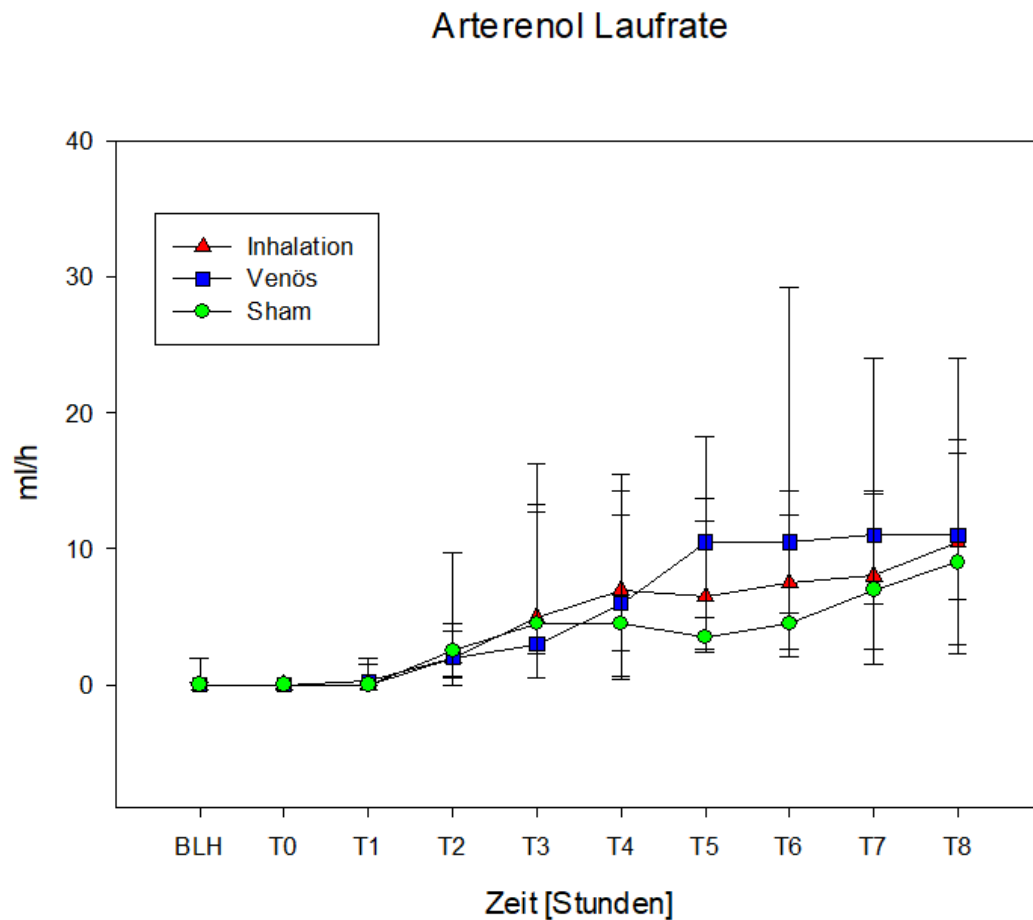


Abbildung 13: graphische Darstellung der Arterenol (Noradrenalin) Laufrate im Gruppenvergleich zu den verschiedenen Messzeitpunkten als Mittelwert +/- Standardabweichung

In der oben gezeigten Graphik (Abb. 13) ist die Arterenol (Noradrenalin) Laufrate in ml/h graphisch als Mittelwert plus/minus Standardabweichung dargestellt. Insgesamt zeigt sich, dass bei allen drei Randomisierungsgruppen ein steigender Noradrenalin Bedarf über den Versuchszeitraum bestand. Es zeigt sich über die gesamte Versuchsdauer kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Versuchsgruppen ($p > 0,05$).

4.4.4 Horovitz-Quotient

Horovitz-Quotient

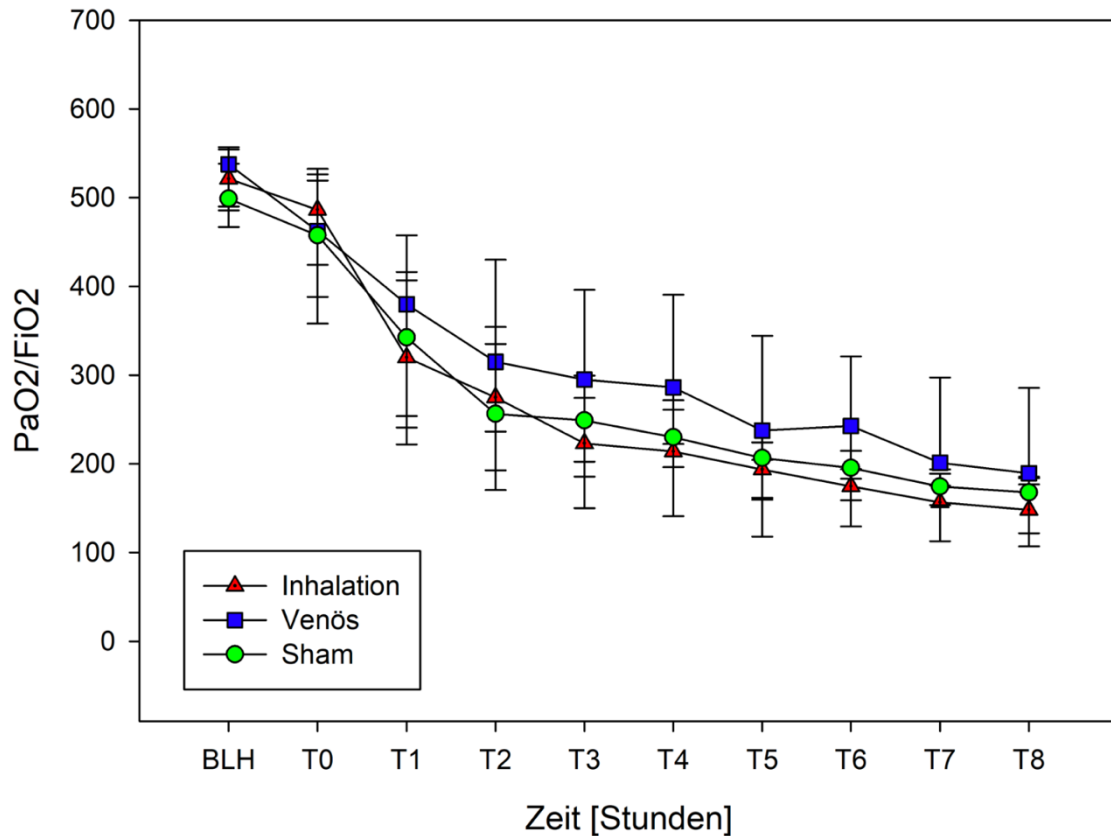


Abbildung 14: graphische Darstellung des Horovitz-Quotienten (PaO_2/FiO_2) im Gruppenvergleich zu den verschiedenen Messzeitpunkten als Mittelwert \pm Standardabweichung

In der vorliegenden Graphik (Abb. 14) ist der Horovitz-Quotient, gemessen aus dem arteriellen Sauerstoffpartialdruck (paO_2) und dem am Beatmungsgerät eingestellten FiO_2 (paO_2/FiO_2), aufgetragen worden. Die errechneten Werte wurden für den jeweiligen Messzeitpunkt für jede Randomisierungsgruppe als Mittelwert plus/minus Standardabweichung in der obenstehenden Graphik (Abb. 14) aufgetragen. Alle drei Versuchsgruppen zeigen in der Graphik einen Verlauf auf fast gleichem Niveau. Es zeigt sich kein signifikanter Unterschied innerhalb oder zwischen den einzelnen Randomisierungsgruppen ($p > 0,05$).

4.4.5 FRC – funktionelle Residualkapazität

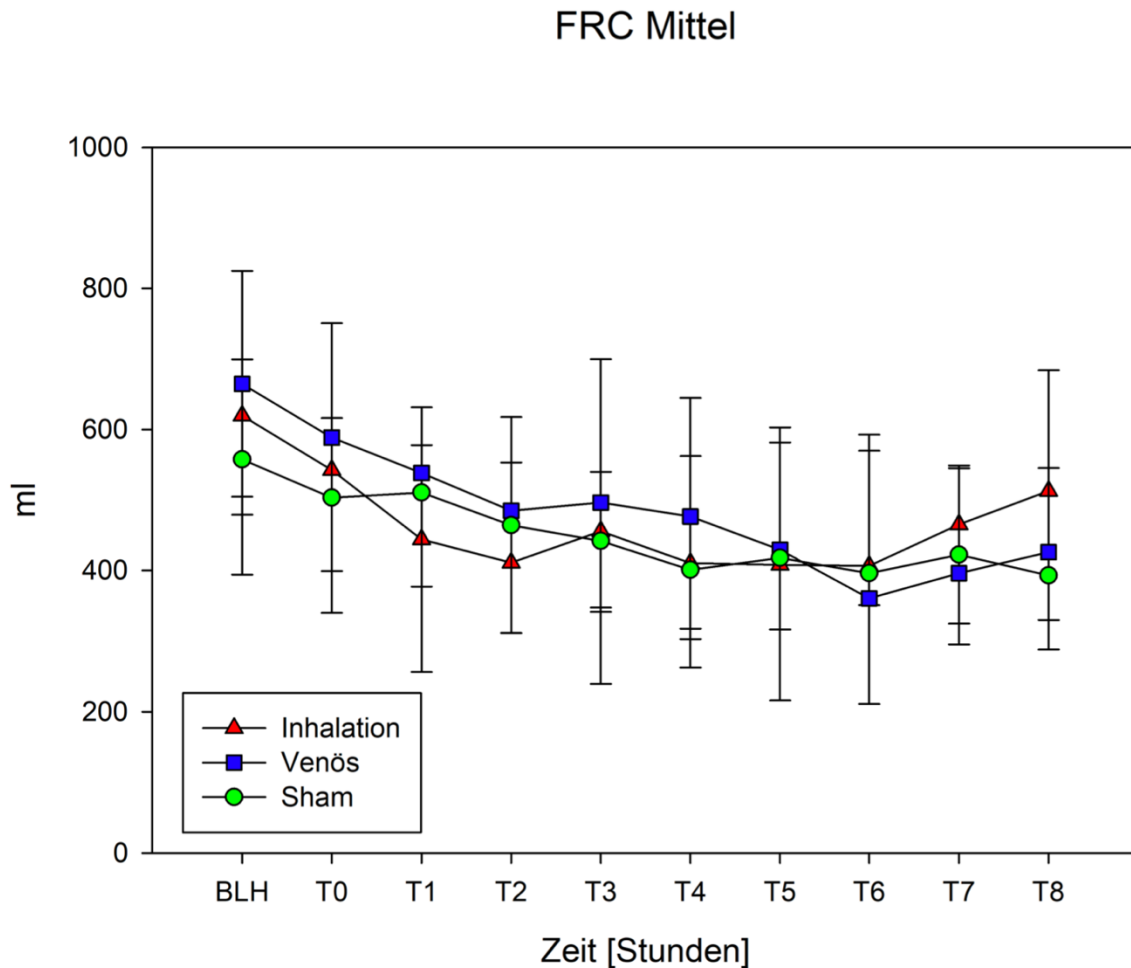


Abbildung 15: graphische Darstellung der Funktionellen Residualkapazität (FRC) im Gruppenvergleich zu den verschiedenen Messzeitpunkten als Mittelwert +/- Standardabweichung

Die Funktionelle Residualkapazität (FRC) wurde über den gesamten Versuchszeitraum in der vorliegenden Graphik (Abb. 15) als Mittelwert plus/minus Standardabweichung aufgetragen. Es zeigt sich bei allen drei Randomisierungsgruppen eine Reduktion der FRC nach Induktion des ARDS. Es zeigt sich kein signifikanter Unterschied innerhalb oder zwischen den einzelnen Randomisierungsgruppen ($p > 0,05$).

4.4.6 Pulmonalarterien Mitteldruck

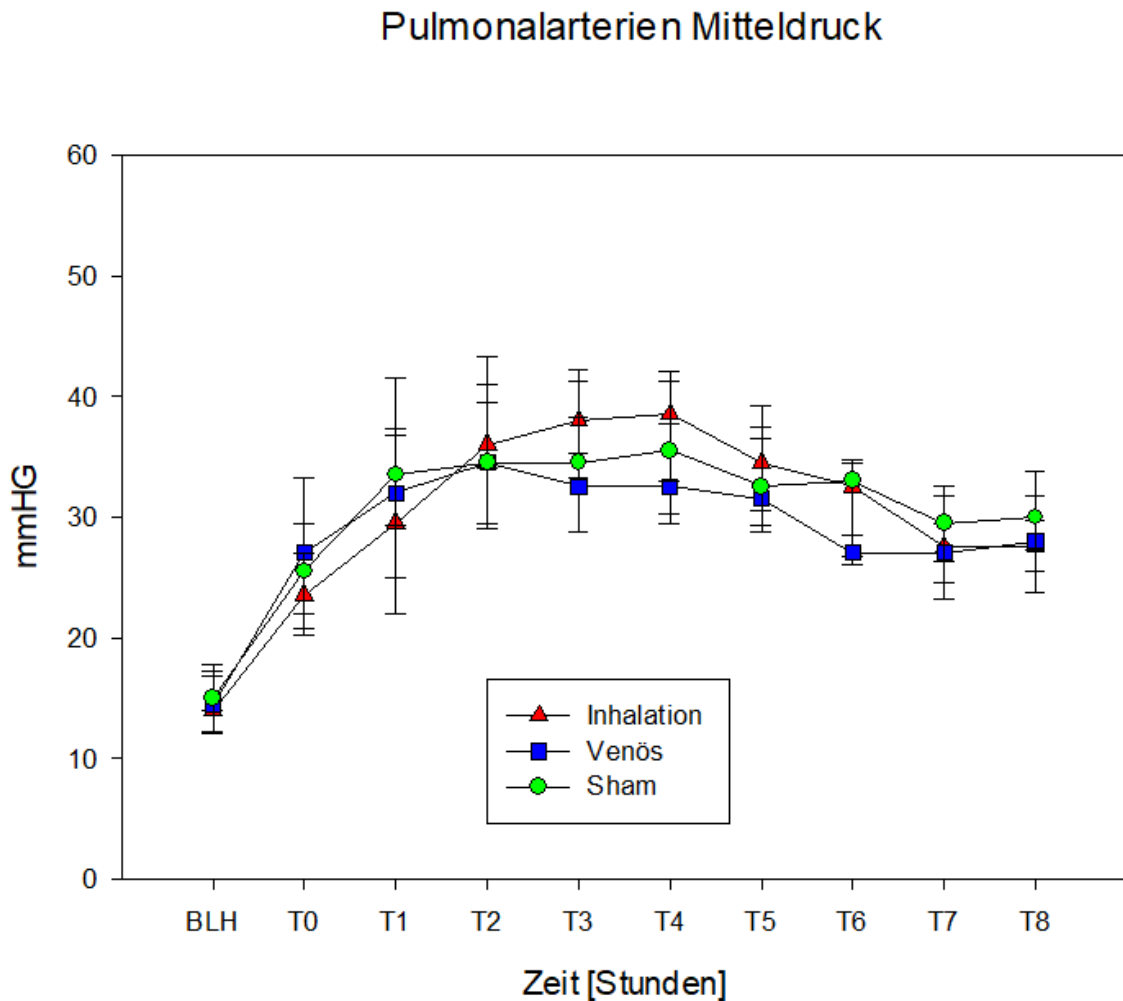


Abbildung 16: graphische Darstellung des pulmonal arteriellen Mitteldruck im Gruppenvergleich, zu den verschiedenen Messzeitpunkten, als Mittelwert +/- Standardabweichung

In der oben gezeigten Graphik (Abb. 16) ist der pulmonal arterielle Mitteldruck graphisch als Mittelwert plus/minus Standardabweichung dargestellt. Der pulmonal arterielle Mitteldruck steigt, bei allen drei Randomisierungsgruppen, ab dem Messzeitpunkt T0 bis zum Messzeitpunkt T4, nach der Induktion des ARDS, deutlich an. Ab dem Messzeitpunkt T5 fällt der pulmonal arterielle Mitteldruck erneut leicht ab.

4.5 makroskopische und histologische Auswertung des Lungenschadens

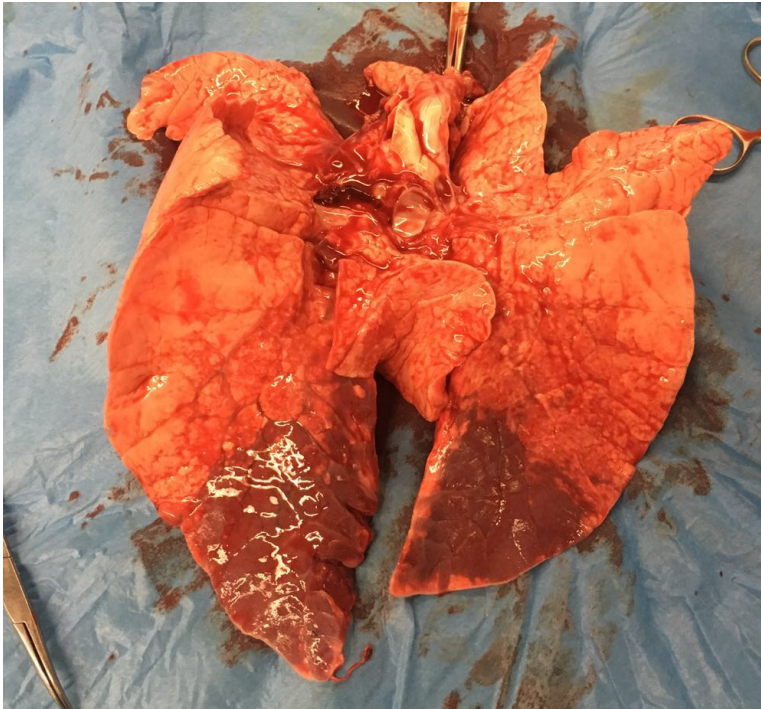


Abbildung 17: makroskopisches Bild der Lunge von ventral ARDS53-03 (Lidocaintherapie p.i.)

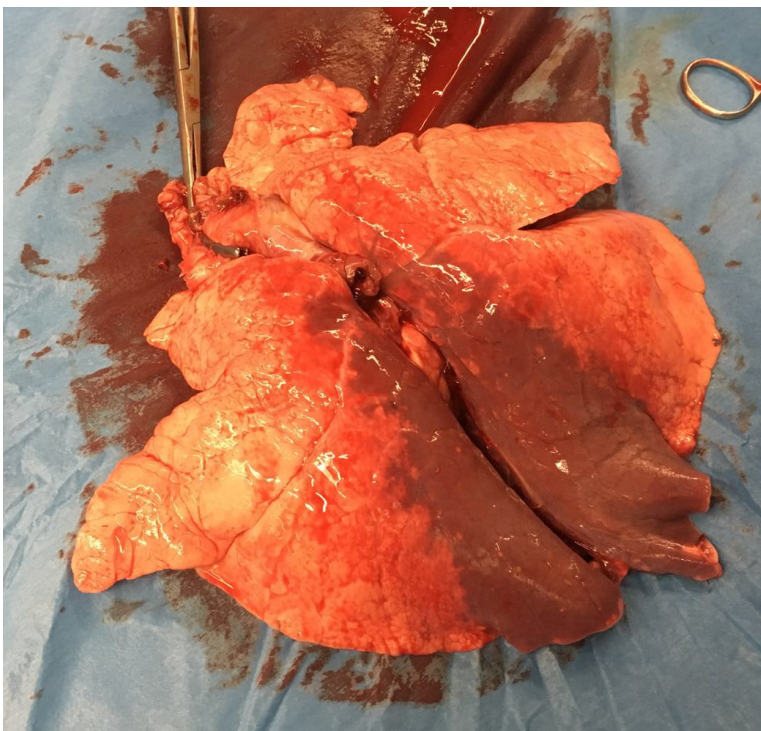


Abbildung 18: makroskopisches Bild der Lunge von dorsal ARDS53-03 (Lidocaintherapie p.i.)

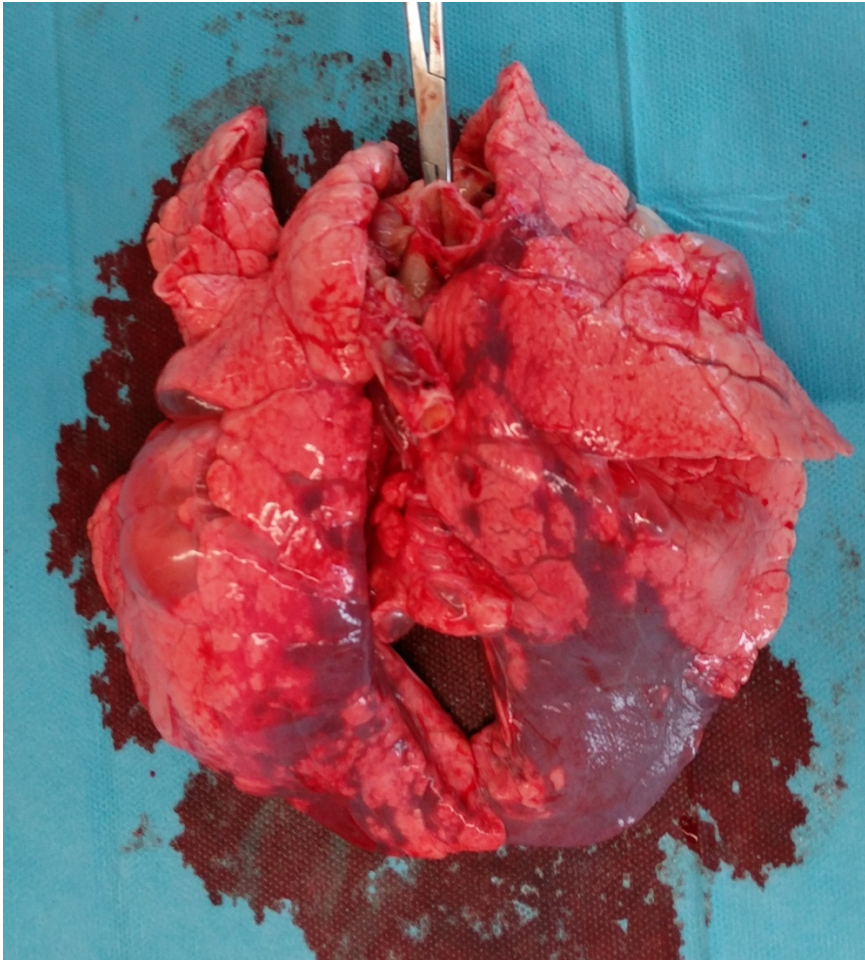


Abbildung 19: makroskopisches Bild der Lunge von ventral ARDS 53-17 (Sham)

Auf den oben gezeigten, beispielhaften, makroskopischen Aufnahmen der Lunge aus dem Versuch ARDS53, erkennt man die unter dem zuletzt bestehenden PEEP abgeklemmte und entnommene Lunge, unmittelbar nach Versuchsende. Auf der ventralen Seite der Lunge, auf Abbildung 17, sind im kaudalen Bereich der Lungenflügel (Lobus caudalis dexter und sinister) deutliche Einblutungen zu erkennen. Auf der dorsalen Seite der Lunge, auf Abbildung 18, erkennt man ebenfalls großflächige Einblutungen über die Lobus caudalis bis zum Lobus medius dexter reichend.

Auf der Abbildung 19 sind auf der ventralen Seite der kaudalen Lungenflügel wiederum großflächige Einblutungen zu erkennen. Zudem erkennt man, sowohl auf der rechten als auch auf der linken Seite in den weiter kranialen Abschnitten, große, luftgefüllte Bullae. Im Bereich des Lobus cranialis dexter scheint es, als ob einige Bullae bereits geplatzt wären. Bei der Präparation der Lunge war auffällig, dass die Lunge schwer und nass wirkte. Beim weiteren Zerteilen der Lunge, für die unterschiedlichen Probenauswertungen, ist aus den Schnittkanten schaumige, weißliche Flüssigkeit ausgetreten.

Tabelle 8: makroskopische und histologische Auswertung

	Lidocain p.i. Gruppe		Lidocain i.v. Gruppe		Sham Gruppe	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD
makroskopische Auswertung	5,71	1,98	6,13	2,36	6,43	1,72
histologische Auswertung	57,71	18,34	58,75	16,84	58,08	13,45

In Tabelle 8 sind die Werte für die makroskopische und die mikroskopische Auswertung aufgelistet.

Bei der makroskopischen Auswertung wäre eine maximale Punktzahl von 16 Punkten zu erreichen. Wie in Tabelle 8 zu erkennen ist, schwanken die Werte zwischen 5,71 und 6,43 in den einzelnen Versuchsgruppen. Damit gibt es keinen signifikanten Unterschied zwischen den einzelnen Randomisierungsgruppen bei der makroskopischen Auswertung.

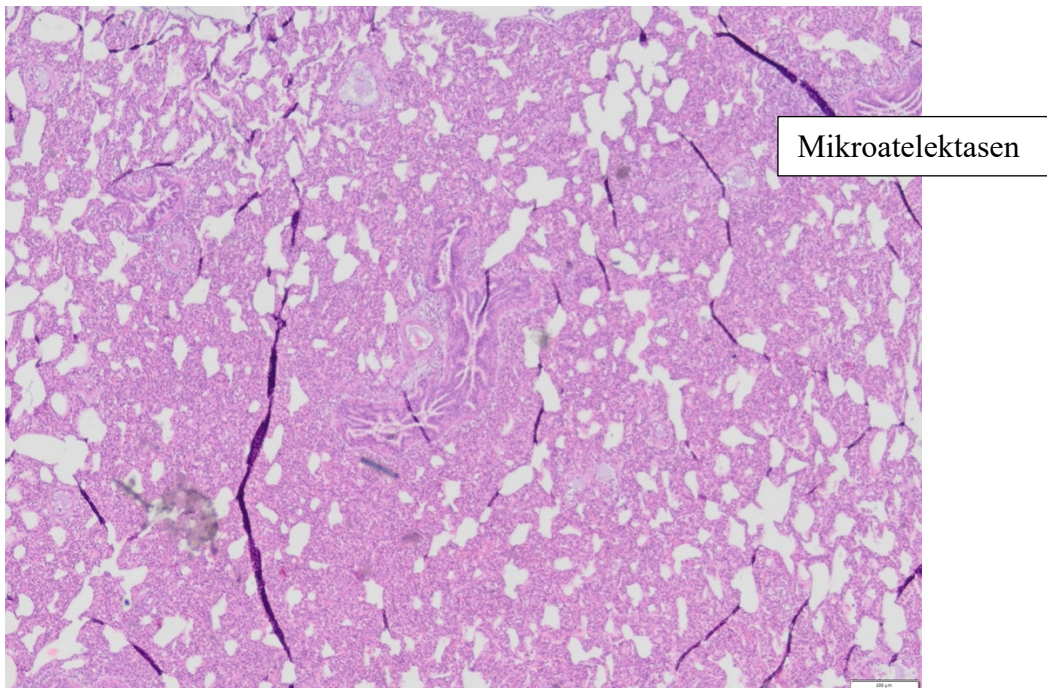


Abbildung 20: histologische Gewebeprobe der Lunge von ARDS53-18 (Lidocain p.i.) (HE-Färbung)

Bei der Mikroskopischen Auswertung, nach dem DAD-Score, kann eine maximale Punktzahl von 175 Punkten addiert werden. Im Vergleich der einzelnen Versuchsgruppen, die mit Lidocain therapiert wurden (in Tab. 8), ist zu erkennen, dass die Mittelwerte der histologischen Auswertung zwischen 57,71 und 58,75 Punkte schwanken. Auch in der Sham Gruppe gibt es mit 58,08 Punkten keinen signifikanten Unterschied zu den anderen beiden Versuchsgruppen.

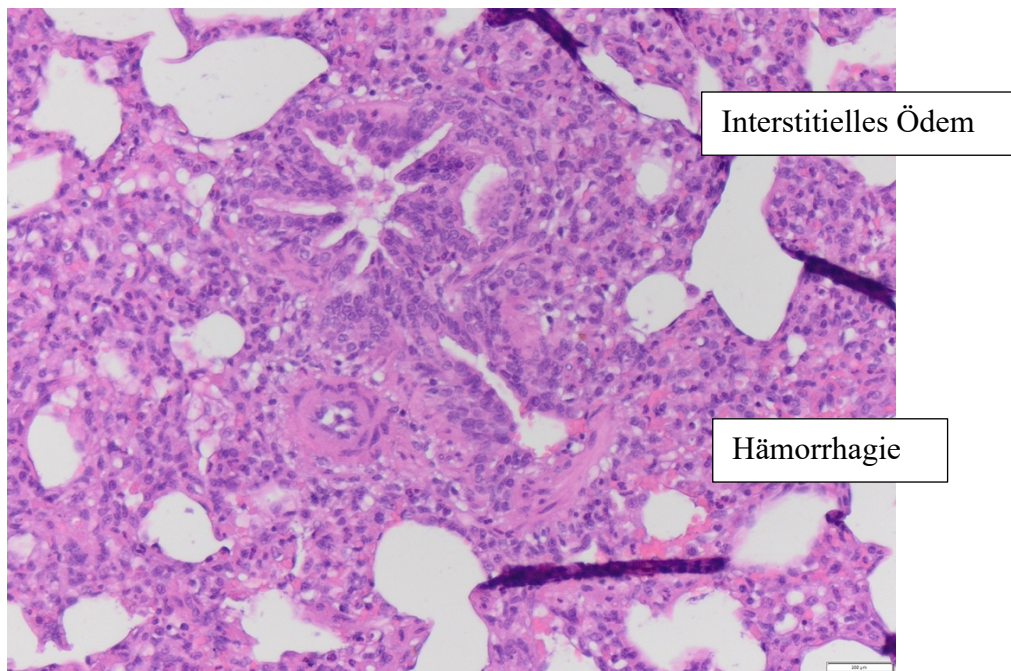


Abbildung 21: histologische Gewebeprobe der Lunge ARDS 53-14 (Lidocain i.v.) (HE-Färbung)

Die Untersuchung der histologischen Präparate erfolgte mittels Lichtmikroskop nach dem DAD-Score (Diffuse Alveolar Damage Score) nach sieben histopathologischen Kriterien (siehe Tabelle 8 und siehe Kapitel 8.3 im Anhang). Die Abbildungen 20 und 21 zeigen beispielhaft die histologischen Veränderungen der Lungengewebsproben, hier mittels HE-Färbung dargestellt.

In der Abb. 20 erkennt man, bei einer 200fachen Vergrößerung, aufgrund der Ausbildung von Makro- und Mikroatektasen, das minderbelüftete und teilweise kollabierte Lungengewebe. Es zeigt sich eine Stauung des Lungengewebes und ein uniformes Bild einer diffusen Alveolarschädigung. Bei einer gesunden Lunge würde sich das Lungengewebe normalerweise als eine parenchymatöse und luftgefüllte Struktur zeigen.

In der Abbildung 21, bei 400facher Vergrößerung, erkennt man in den unterschiedlichen Abschnitten eine diffuse alveoläre Hämorrhagie, also freie Erythrozyten in den Alveolen. Auf der histologischen Aufnahme zeigt sich ein fibrinreiches, interstitielles Lungenödem.

Zudem kommt es bei der Ausbildung eines ARDS zur alveolären Inflammation und zum alveolaren Ödem mit verdickte Alveolarsepten. ⁱ

Pulmonaler Schadensscore

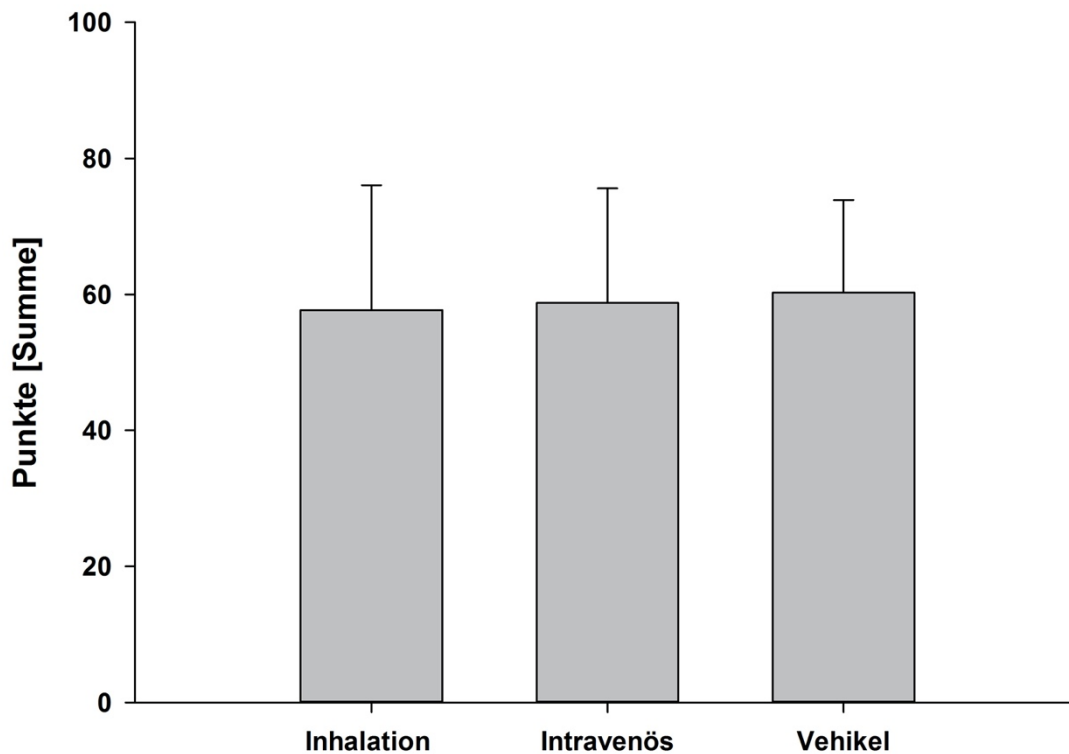


Abbildung 22: graphische Darstellung, als Balkendiagramm, des pulmonalen Schadensscore nach der histologischen Auswertung nach dem DAD-Score, als Mittelwert +/- Standardabweichung.

Auf der graphischen Darstellung, in Abbildung 22, ist der pulmonale Schadensscore als Mittelwert +/- Standardabweichung, nach der histologischen Auswertung, mittels DAD-Score aller mikroskopischen Präparate aufgetragen. In dem Diagramm ist zu erkennen, dass der pulmonale Schadensscore in allen drei Randomisierungsgruppen etwa die gleiche Punktzahl hat. Es ist kein signifikanter Unterschied beider histologischen Analysen, innerhalb oder zwischen den einzelnen Randomisierungsgruppen darstellbar.

4.6 Molekularbiologische Auswertung

4.6.1 Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- α) und Interleukin-6 (IL-6)

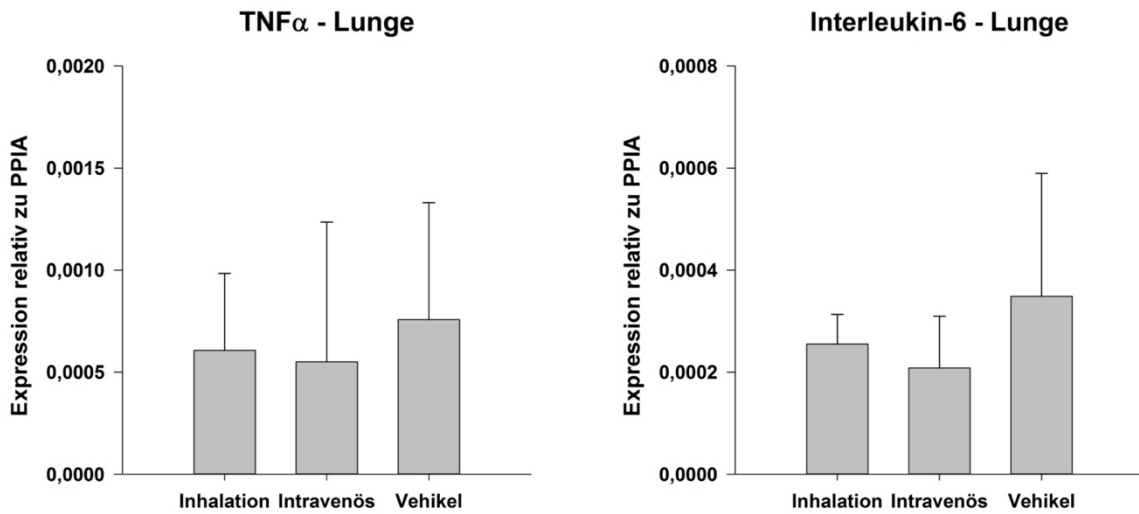


Abbildung 23: Darstellung der Anzahl der Kopien des Proteins Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- α) und Interleukin-6 (IL-6) im Lungengewebe im Gruppenvergleich als Säulendiagramm mit Mittelwert und Standardabweichung (* $p < 0,05$ gegen Normo)

In der vorliegenden Graphik (Abb. 23) sind die Ergebnisse der rt-PCR für die Proteine Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- α) und Interleukin-6 (IL-6) aus dem Lungengewebe dargestellt. Die Lungengewebeproben wurden gegen das Housekeeping-Gen Peptidylprolyl Isomerase A (PPIA) normalisiert. Es zeigt sich, dass in der Sham-Gruppe (Vehikel) mehr TNF- α und mehr IL-6 Protein nachgewiesen werden konnte als in den beiden Versuchsgruppen, die mit Lidocain behandelt wurden. Für die Ergebnisse der Messung lässt sich jedoch keine Signifikanz erkennen.

4.7 Wet-to-Dry Verhältnis

Tabelle 9: tabellarische Auflistung des Wet-to-Dry Verhältnis der Lunge

Lidocain p.i. Gruppe	Wet to Dry Ratio	SD	Lidocain i.v. Gruppe	Wet to Dry Ratio	SD	Sham Gruppe	Wet to Dry Ratio	SD
ARDS 53-03	5,357	0,28	ARDS 53-04	4,916	0,42	ARDS 53-05	5,091	0,08
ARDS 53-07	5,466	0,19	ARDS 53-06	5,308	0,15	ARDS 53-10	6,333	0,80
ARDS 53-09	6,889	0,81	ARDS 53-14	6,611	0,77	ARDS 53-13	5,294	0,07
ARDS 53-18	8,146	1,69	ARDS 53-22	6,204	0,49	ARDS 53-17	3,329	1,32
ARDS 53-20	6,009	0,19	ARDS 53-32	6,431	0,65	ARDS 53-24	5,205	0,004
ARDS 53-23	5,057	0,49	ARDS 53-33	5,185	0,23	ARDS 53-27	5,170	0,02
ARDS 53-25	4,043	1,20	ARDS 53-35	5,112	0,28	ARDS 53-31	5,614	0,29
ARDS 53-36	5,000	0,53	ARDS 53-37	4,351	0,82	ARDS 53-38	5,559	0,25
Mittelwert	5,746			5,515			5,199	

Das Wet-to-dry Verhältnis ist ein Parameter für die Wasseransammlung in der Lunge und dient damit der Bewertung des Schweregrades eines Lungenödems. Der rechte Lungenoberlappen (OL) wurde direkt nach der Organentnahme von der restlichen Lunge abgetrennt und auf einer Präzisionswaage gewogen. Anschließend wurde der Lungenabschnitt in einer metallischen Nierenschale für 48h bei 70°C im Wärmeschrank getrocknet und im Anschluss erneut gewogen.

In der Tabelle 9 sind die Werte für die drei Randomisierungsgruppen dargestellt. Je höher die Wet/Dry Ratio (W/D Ratio), ist umso höher ist der Wassergehalt in der Lunge, umso niedriger die W/D Ratio ist, umso niedriger ist der Wassergehalt der Lunge. Es sind keine signifikanten Unterschiede im W/D Verhältnis zwischen den einzelnen Randomisierungsgruppen festzustellen. Auch die Kontrollgruppe (Shamgruppe), die keine

Lidocaintherapie erhalten hat, unterscheidet sich nicht signifikant von den beiden Versuchsgruppen, die eine Lidocaintherapie erhalten haben.

In dem Ergebnis erkennt man jedoch, aufgrund der hohen W/D Ratio, dass es sich um einen hohen Wassergehalt in der Lunge handelt und die Tiere durchweg ein fulminantes Lungenödem entwickelt haben.

5 Diskussion

In der vorliegenden Studie („Der Einfluss von Lidocain auf ein durch LPS ausgelöstes ARDS im Großtiermodell“ (ARDS-53)) wurde die antiinflammatorische Eigenschaft von Lidocain, bei einem durch Sepsis verursachten ARDS, untersucht.

Ein Akutes Atemnotsyndrom (ARDS) beim Menschen ist histopathologisch u.a. durch eine neutrophile Alveolitis, Schädigung des Epithels und des Endothels der Alveolarmembran und durch die Bildung von hyalinen Membranen gekennzeichnet. Sowohl die vollständige Pathogenese des ARDS als auch die Therapie ist weiterhin Gegenstand der aktuellen Forschung. (35) Daher sind weitere Untersuchungen, wie diese hier vorliegende Arbeit von großer Bedeutung. In der Studie von Matute-Bello et al. zeigt die Verwendung von LPS, zur Auslösung eine Sepsis induziertes ARDS-Modell ein gutes Ergebnis und eine hohe Reproduzierbarkeit. Das verwendete ARDS-Modell führt zu den bekannten sepsisähnlichen hämodynamischen Veränderungen. (35, 47) Aus den oben genannten Gründen, wurde das LPS-Modell für diese Arbeit ausgewählt.

Das kurz wirksame Lokalanästhetikum Lidocain hat eine hemmende Wirkung auf spannungsabhängige Na^+ - und Ca^{2+} -Kanäle. Es wurde in der hier vorliegenden Arbeit auf zwei unterschiedliche Arten verabreicht: per Inhalation (p.i.) und per Infusion (i.v.). Die Aktivierung spannungsabhängiger Na^+ -Kanäle ist ein wichtiger Schritt bei der T-Zell-Aktivierung. (30) Die intravenöse Gabe von Lidocain unterdrückt nachweislich, in den Versuchen von Zhang et al., die Entzündungsreaktion in einem Rattenmodell für akute Lungenverletzungen. (26) In der Arbeit von Nishina et al. wurde gezeigt, dass Lidocain die Entzündungsreaktion bei Tieren abmildert, indem es die Ansammlung polymorphkerniger Granulozyten (PMNs) in der Lunge vermindert. (11) Lidocain wurde, während der Covid-19-Pandemie als potenzielles Therapeutikum, für Patienten mit schweren respiratorischen Symptomen vorgeschlagen, da es den Zytokinspiegel senken und somit die Lunge schützen kann. (30)

Die in dieser Studie verwendeten Methoden wurden bereits früher eingesetzt, um verschiedene Aspekte der Sepsis zu untersuchen und nachzuweisen. Allerdings nicht begrenzt auf die Untersuchung der lungenprotektiven und antiinflammatorischen Eigenschaften neuartiger Inhalationsmittel und die Bewertung der Auswirkung der Sepsis auf die endotheliale Glykokalyx am Schweinmodell.

5.1 Vital und Laborparameter

Ähnlich wie bei kritisch kranken Patienten mit einem ARDS auf der Intensivstation, wurden die Versuchstieren nach dem etablierten Standard der angewandten Intensivmedizin behandelt. Dazu zählt eine invasive Messung des Blutdrucks und die kontinuierliche Erfassung der Herzfrequenz. Daneben wurde eine Reihe weiterer Kreislaufparameter z.B. die Messung des HZV mittels PiCCO, die periphere Sauerstoffsättigung, sowie stündliche BGA-Messungen aufgezeichnet.

Das vorliegende ARDS-Modell führte zu sepsisähnlichen hämodynamischen Veränderungen. Hierzu zählen ein Anstieg der Herzfrequenz und ein erhöhtes Herzzeitvolumen im hyperdynamischen septischen Zustand. Darüber hinaus wurde ein signifikanter Rückgang der Leukozyten und Thrombozyten (siehe Tabelle 7) beobachtet, wie er im SOFA-Score (Sepsis Related Organ Failure Assessment) für das Sepsis-Screening gefordert wird. (48) (49)

Allerdings wurde bei der Messung der Laborparameter, kein signifikanter Rückgang der systemischen Inflammationsparameter wie z.B. des Laktatspiegels festgestellt. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte die Dauer des Experiments sein, die mit 8 Stunden möglicherweise zu kurz bemessen war, um signifikante Veränderungen festzustellen.

Das Experiment zeigte auch eine durch Sepsis verursachte Funktionsbeeinträchtigung der Lunge. Es kommt zum Abfall der funktionellen Residualkapazität und des Horowitz-Quotienten sowie zum Anstieg des pulmonal arteriellen Drucks. (siehe Abb. 14-16)

Eine grenzwertige Reduktion der pulmonalen Inflammationsparameter ohne statistische Signifikanz ist nachweisbar. (siehe Abb. 23)

5.2 makroskopische und histologische Auswertung des Lungenschadens

Die Schweinelunge hat einen ähnlichen Aufbau wie die menschliche Lunge, daher eignet sich das Schwein auch als anerkanntes Tiermodell um die Versuchsergebnisse auf den Menschen bestmöglich übertragen zu können. Die Schweinelunge teilt sich, anders als beim Menschen, rechts in vier einzelne Lappen und links in zwei Lappen. (50)

In der makroskopischen Analyse zeigen sich Werte zwischen 5,71 (p.i. Gruppe) und 6,43 (Sham Gruppe) bei maximal zu erreichenden 16 Punkten (siehe Tabelle 8). Durch die LPS bedingte Sepsis entsteht ein deutlich erkennbares ARDS mit sichtbaren Makroatelektasen, Einblutungen und einem massiven schaumigen Lungenödem.

Die histologischen Schnitte sind mittels DAD-Score ausgewertet worden. Es zeigen sich in allen Gruppen Mikroatektasen, Hämorrhagien und ein interstitielles Ödem. (siehe auch Abbildungen 20-21 und Tabelle 8) Zwischen den drei Randomisierungsgruppen ist in der histologischen Auswertung kein signifikanter Unterschied zu erkennen.

Durch die Marko und Mikroatektasen kommt es zu einer Mangelbelüftung des entsprechenden Lungenareals. Dadurch entsteht wiederum eine verminderte Permeabilität der Alveolarwände und infolgedessen entsteht ein alveoläres Ödem.

Makroskopisch sowie histologisch lässt sich kein Vorteil für eine Lidocain Therapie (weder per inhalationem noch intravenös) in der Studie nachweisen.

5.3 Molekularbiologie

Zur Quantifizierung der inflammatorische Parameter in dieser Studie, steht mit der RT-PCR-Methode ein etabliertes Verfahren zur Verfügung. Die RT-PCR Methode zum Gennachweis ist im Labor der experimentellen Intensivmedizin der Universitätsmedizin Mainz gut etabliert und wurde bereits regelhaft zum Inflammationsnachweis bei vorherigen Studien eingesetzt.

Auf der molekularen Ebene konnte jedoch weder bei der Untersuchung der Expression von IL-6 noch bei TNF- α im Lungengewebe ein signifikanter Nachweis für einen Einfluss von Lidocain auf die Randomisierungsgruppen in der vorliegenden Studie gezeigt werden. Die molekularbiologische Untersuchung zeigte somit keinen Vorteil der Therapie des ARDS mittels Lidocains. Ein möglicherweise limitierender Faktor in dieser Studie könnte die zu kurze Beobachtungszeit von 8 Stunden sein. Die Studie von Zhang et al. hatte im Vergleich eine längere Beobachtungszeit von 12 Stunden. (26) Eventuell ist ein Nachweis der empfindlichen Analyse der Transkriptionsregulierung von Entzündungsmarkern (TNF- α und IL-6) in der Zeit des Versuches nicht möglich.

Des Weiteren wurden bei anderen Studien z.B. bei Chen et al. die Konzentration der Mediatoren in der bronchoalveolären Lavage (BAL) gemessen und nicht direkt aus dem Lungengewebe. Es mangelt in der Literatur an zuverlässigen und vergleichbaren Daten zu entsprechenden Konzentrationen für beide Kompartimente. (51)

5.4 Wet-to-Dry Verhältnis

Die Wet-to-Dry Ratio ist ein Maßstab zur Bestimmung des Ausmaßes eines Lungenödems in diesem Versuch. Es konnte durch die Wet-to-Dry Ratio nachgewiesen werden, dass sich

bei allen Tieren ein fulminantes Lungenödem entwickelt hat. Somit zeigt sich ein positiver Nachweis des Versuchsaufbaus und der Etablierung des Lungenschadensmodells. In den einzelnen Gruppen und auch nicht zwischen den einzelnen Randomisierungsgruppen konnte kein signifikanter Unterschied, der Wet-to-Dry Ratio, festgestellt werden. Der extrazelluläre Lungenwasserindex (ELWI), welches mittels PiCCO gemessen werden kann, ist in allen Gruppen leicht angestiegen. Zum Endzeitpunkt der Versuche (T8) beträgt das extrazelluläre Lungenwasser zwischen 13 und 22ml/kgKG. Der Normwert beim Menschen beträgt $7,4 \pm 3,3$ ml/kg bezogen auf das idealisierte Körpergewicht. (52) Durch die Bestimmung des extrazellulären Lungenwasserindex (ELWI) kann das Ausmaß des Lungenödems, in der Intensivmedizin bettseitig quantifiziert werden. Der Nachweis der erhöhten Werte des extrazellulären Lungenwasserindex korreliert mit dem Nachweis des Lungenödems in der Wet-to-Dry Ratio. (53)

Dieses nicht kardiogene Lungenödem, das bei ARDS auftritt, konnte in der Arbeit von Jozwiak et al. als ein unabhängiger Risikofaktor für die 28-Tage Sterblichkeit nachgewiesen werden. (54) Lidocain zeigte hier jedoch nicht die in der Arbeit von Caracas et al. beschriebene Verringerung der Gefäßpermeabilität und die Hemmung der Ödembildung bei intravenöser und systemischer Gabe von Lidocain. (55)

5.5 Limitation der Studie

Die hier vorliegende Studie weist einige Limitationen auf, auf die es in diesem Abschnitt näher zu betrachten gilt. Die Durchführung eines ARDS mittels Lipopolysacchariden am Großtiermodell verlief im Labor der experimentellen Intensivmedizin der Universität Mainz anhand eines erprobten Protokolls. Die Narkoseeinleitung und -aufrechterhaltung, die Bestückung sowie die kontinuierliche Überwachung der Versuchstiere wurde bei allen drei Versuchsgruppen (**Gruppe 1:** Lidocain p.i., **Gruppe 2:** Lidocain i.v., **Gruppe 3:** Sham-Gruppe) nach einem fixen Protokoll, gleich durchgeführt. Nach dem Schema der ALVEOLI Studie wurde individuell die FiO_2 und der PEEP angepasst. Die applizierte notwendige Menge an kreislaufunterstützenden Medikamenten, wurde je nach Tier und entsprechend dem vorliegenden MAP angepasst und kann sich daher zwischen den Tieren und Gruppen unterscheiden. Ein als normal zu definierender systolischer Blutdruckbereich bei Hausschweinen beträgt $133 \pm 15,9$ mmHg. (56) Es ist davon auszugehen, dass bei den Versuchstieren eine gewisse Blutdruckanpassung an individuelle Bedürfnisse stattfindet, ganz ähnlich wie beim Menschen auch. Die Narkoseführung und die intensivmedizinische

Betreuung der Versuchstiere orientierten sich an der aktuellen klinischen Praxis. Eine annähernde Strukturgleichheit der Studie konnte somit erreicht werden.

Es handelt sich bei dem Zuchtbetrieb (B. Eisenmenger in Bubenheim) um einen ökologischen Zuchtbetrieb, aus dem die Versuchstiere stammen. Die Tiere werden dort artgerecht aufgezogen und gehalten, trotzdem sind interindividuelle Unterschiede der Tiere vorhanden. Zu Beginn der Versuche lagen keine Beeinträchtigungen bei den Tieren vor, trotzdem könnte eine geschwächte Grundverfassung der Tiere ein limitierender Faktor für die Studie sein. Genauso kann es in einem solchen Zuchtbetrieb ein erhöhtes Risiko für Gendefekte geben, welche unwissentlich Einfluss auf die Studien haben könnten. Dies entsteht aufgrund einer erhöhten Rate von Konsanguinität in den Zuchtbetrieben.

Ein weiterer Faktor der Limitation dieser Studie ist die Tatsache, dass es sich bei den Tieren um gesunde Versuchstiere handelt. Ein akutes Atemnotsyndrom ist eine Erkrankung die grundsätzlich eher bei vorerkrankten und älteren Menschen auftritt. Die Inzidenz für Pneumonien, was eines der Hauptauslöser für ein ARDS sein kann, steigt mit jeder Lebensdekade. (57) Ausschlaggebend für eine steigende Inzidenz sind unterschiedliche Risikofaktoren. Hierzu zählen die Abschwächung der mukoziliäre Clearance im Nasen-Rachen-Raum mit zunehmendem Alter (geschädigte Zilien durch Rauchen und Feinstaub), Erkrankungen der Lunge (z.B. COPD), medikamentöse Immunsuppression und ein geschwächtes Immunsystem z.B. durch Diabetes mellitus oder Krebserkrankungen. (58)

Eine weitere Limitation der Studie ist die verhältnismäßige kurze Beobachtungszeit nach Induktion des ARDS (in diesem Fall 8h). Im Vergleich wurde bei anderen Studien ein Beobachtungszeitraum von meist 12 oder 24h gewählt. So war beispielsweise bei der Arbeit von Chen et al. (51) ein Beobachtungszeitraum von 12h angesetzt. Daher ist zu vermuten, dass in den hier durchgeführten Versuchen vermutlich nach Versuchsende noch keine Veränderungen durch die Lidocaintherapie nachgewiesen werden konnten. Eine Folgestudie mit einem längeren Beobachtungszeitraum wäre zur Klärung anzustreben.

In dem vorliegenden Versuchen wurde, wie in vielen Studiendesigns, lediglich mit männlichen Versuchstieren gearbeitet. Lange Zeit stand die Vermutung im Raum, dass hormonelle Zyklusschwankungen zu großen Veränderungen und Ungenauigkeiten in den Versuchen verursachen würden. Zudem wurde vermutet, die doppelte Anzahl (gleiche Anzahl für männlichen und weibliche Tiere) an Versuchstieren, die Kosten für experimentelle Versuche in die Höhe treiben. (59) Das weibliche Versuchstier wurde daher sehr oft als „Sondermodell“ bezeichnet. Da weibliche Versuchstiere zu wenig erforscht werden, können eventuell wichtige pathologische Ursachen für die Entstehung von

Krankheiten oder die pharmakologische Wirkung der Medikamente übersehen werden. Wenn bei weiteren Studien sowohl männliche als auch weibliche Versuchstiere verwendet werden würden, würden die Resultate besser auf Patientinnen und Patienten übertragen werden können. (60)

Zudem stellt sich die Frage ob die Ergebnisse aus den Studien z.B. von Zhang et al. die an einem Kleintiermodell etabliert wurden, auf ein Großtiermodell, wie das Schwein übertragbar sind. Zudem unterscheidet sich die Arbeit von Zhang et al., da die Etablierung der Sepsis bei Zhang et al. durch eine Ligatur und Punktion der Appendix (CLP) ausgelöst worden ist. (26) In der hier vorliegenden Studie wurde die Sepsis jedoch durch die Gabe von Lipopolysacchariden ausgelöst. Daher stellt sich natürlich die Frage, ob bei unterschiedlich ausgelösten Sepsismodellen die Therapie mittels Lidocain die Gleiche sein kann?

Die verwendete Lidocaindosis in der hier vorliegenden Studie beträgt initial 2mg/kg Körpergewicht für die Zeit von T0 bis T1 und in der Erhaltungsphase ab dem Messzeitpunkt T1 1mg/kgKG. Vergleichbare Studien z.B. die Arbeit von Chen et al. verwendeten im Vergleich deutlich höhere Lidocaindosen mit bis zu 5mg/kgKG. (51) In der Arbeit von Chen et al. wurde gezeigt, dass der Lungenschadensscore mit steigender Lidocaindosis signifikant abgenommen hat. (51)

Die Angaben über Höchstdosen von Lokalanästhetika werden in den meisten Fällen auf der Basis von Extrapolationen aus Tierversuchen, klinischen Erfahrungen mit der Anwendung verschiedener Dosen und Fallberichten über die Toxizität getroffen. (61) Der LD50 Wert für Lidocain für Ratten bei oraler Aufnahme beträgt 317mg/kgKG und für die intraperitonealer Applikation 133mg/kgKG. In Deutschland und anderen europäischen Ländern, wie Schweden und Finnland wird eine Maximaldosis von 200mg (circa 2,5mg/kgKG bei einem durchschnittlichen 80kg Mensch) für Lidocain ohne der Zugabe von Adrenalin empfohlen. (62) Aus diesen Daten entsteht die Vermutung, dass eine Dosierung von 5mg/kgKG zur Therapie des ARDS, wie es in der Arbeit von Chen et al an Ratten durchgeführt wurde, für den Menschen mehr toxische Wirkung haben könnte, als Nutzen. Dafür sind insgesamt, allerdings noch weitere Studien notwendig, sowohl für die exakte Maximaldosisfindung für Lidocain, als auch für die Therapie des ARDS mittels Lidocain.

5.6 Schlussfolgerung

In dieser Studie wurde der entzündungshemmende Einfluss des Lokalanästhetikums, Lidocain, auf ein durch Lipopolysaccharide ausgelöstes ARDS im Großtiermodell untersucht. Es wurde in einem möglichst realitätsnahen, intensivmedizinischen Setting, an Schweinen, ein ARDS simuliert, welches aufgrund seiner hohen Reproduzierbarkeit und Eignung für Schweine, ausgewählt wurde. (47) Anschließend wurde den Tieren in einem neuen Therapieansatz Lidocain, auf zwei unterschiedlichen Applikationswegen, intravenös und inhalativ, verabreicht.

In der Zusammenschau der Resultate konnte kein signifikantes Ergebnis zur Therapie des ARDS durch Lidocain, unabhängig der Applikationsart, nachgewiesen werden. Die antiinflammatorische Wirkung von Lidocain auf das ARDS konnte in dieser Studie nicht belegt werden. Weder in der histologischen noch in der molekularbiologischen Untersuchung konnte ein signifikanter Unterschied diagnostiziert werden.

Für weitere Folgestudien ergeben sich einige weitere Fragen. Es stellt sich die Frage der Lidocaindosierung zu reevaluieren und kritisch zu überprüfen. In Studien von Chen et al. wurden Lidocaindosen bis zu 5mg/kgKG verwendet im Vergleich zu der hier vorliegenden Studie mit 1-2mg/kgKG. Die potenzielle Rolle von Lidocain als therapeutische Maßnahme bei Patienten mit akutem Atemnotsyndrom bleibt ungeklärt und Gegenstand weitere Forschungsprojekte. Des Weiteren sollte in folgenden Studien eine detailliertere Bewertung der entzündungshemmenden Wirkung erfolgen.

Für folgende Untersuchungen sollte die Versuchsdauer angepasst und verlängert werden. Durch diese Verlängerung der Beobachtungszeit, ist es unter Umständen möglich z.B. eine bessere Evaluation der Analyse der Transkriptionsfaktoren zu erhalten. In der Arbeit von Takao et al. wurde beispielsweise ein Beobachtungszeitraum von 36 Stunden festgelegt und in der Arbeit von Chen et al. 12 Stunden. (63)

6 Zusammenfassung

In der hier vorliegenden Dissertation wurde das Thema „Der Einfluss von Lidocain auf ein durch LPS ausgelöstes ARDS im Großtiermodell“ untersucht. Das Akute Atemnotsyndrom (acute respiratory distress syndrome - ARDS) ist eine massive Reaktion der Lunge auf diverse schädigende Faktoren. Infolgedessen kommt es zu einer massiven entzündlichen Reaktion der Lunge und dadurch zu einer schweren Einschränkung der Oxygenierung. Das ARDS ist eine weiterhin häufige Erkrankung auf Intensivstationen, die mit einer hohen Morbidität und Mortalität verbunden ist, obwohl es seit vielen Jahren große Forschungsanstrengungen gibt, existiert bis heute keine spezifische Therapie.

Lidocain ist ein weitverbreitetes Lokalanästhetikum, das die schnellen spannungsgesteuerten Natriumkanäle (Na^+) in der neuronalen Zellmembran blockiert und so die Signalausbreitung unterbindet. Jüngste Studien zeigen, dass intravenös verabreichtes Lidocain die Lungenfunktion verbessert und das Lungengewebe von Schweinen unter hämorrhagischem Schock, Sepsis und bei Lungenoperationen schützt.

Die Ergebnisse in der vorliegenden Studie zeigen eine erfolgreiche Induktion des ARDS mittels LPS ($p < 0,05$ für $\text{paO}_2/\text{FiO}_2$) in allen drei Randomisierungsgruppen für die Messzeitpunkte T1-T8 vs. Baseline gezeigt werden. Es konnte in allen drei Randomisierungsgruppen septische, hämodynamische Veränderungen diagnostiziert werden. Das Wet-to-Dry Verhältnis und die histologische Untersuchung der Lunge zeigen signifikante Ergebnisse. Ebenso die molekularbiologischen Auswertungen der pulmonalen mRNA-Expression der Entzündungsmediatoren IL-6 und TNF-alpha zeigten keine signifikanten Veränderungen zwischen den Randomisierungsgruppen.

In dieser Studie konnte die mutmaßliche entzündungshemmenden und lungenprotektive Wirkungen des Lokalanästhetikums Lidocain, bei Sepsis-induzierten akuten Lungenverletzungen (ARDS), nicht nachgewiesen werden.

Aus der hier vorliegenden Arbeit ergeben sich einige weitere Fragen, die in weiterführenden Studien untersucht werden sollten.

7 Literaturverzeichnis

1. Matthay MA, Zemans RL, Zimmerman GA, Arabi YM, Beitler JR, Mercat A, et al. Acute respiratory distress syndrome. *Nat Rev Dis Primers*. 2019;5(1):18.
2. Meyer NJ, Gattinoni L, Calfee CS. Acute respiratory distress syndrome. *Lancet*. 2021;398(10300):622-37.
3. Máca J, Jor O, Holub M, Sklienka P, Burša F, Burda M, et al. Past and Present ARDS Mortality Rates: A Systematic Review. *Respir Care*. 2017;62(1):113-22.
4. Bellani G, Laffey JG, Pham T, Fan E, Brochard L, Esteban A, et al. Epidemiology, Patterns of Care, and Mortality for Patients With Acute Respiratory Distress Syndrome in Intensive Care Units in 50 Countries. *Jama*. 2016;315(8):788-800.
5. Ashbaugh DG, Bigelow DB, Petty TL, Levine BE. Acute respiratory distress in adults. *Lancet*. 1967;2(7511):319-23.
6. Bernard GR, Artigas A, Brigham KL, Carlet J, Falke K, Hudson L, et al. The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994;149(3 Pt 1):818-24.
7. Ware LB, Matthay MA. The acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*. 2000;342(18):1334-49.
8. Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, Ferguson ND, Caldwell E, Fan E, et al. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. *Jama*. 2012;307(23):2526-33.
9. Matthay MA, Arabi Y, Arroliga AC, Bernard G, Bersten AD, Brochard LJ, et al. A New Global Definition of Acute Respiratory Distress Syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 2024;209(1):37-47.
10. Saguil A, Fargo MV. Acute Respiratory Distress Syndrome: Diagnosis and Management. *Am Fam Physician*. 2020;101(12):730-8.
11. Nishina K, Mikawa K, Takao Y, Shiga M, Maekawa N, Obara H. Intravenous lidocaine attenuates acute lung injury induced by hydrochloric acid aspiration in rabbits. *Anesthesiology*. 1998;88(5):1300-9.
12. Dietmar Reitgruber JA. *Internistische Intensivmedizin für Einsteiger*: Springer Berlin, Heidelberg; 2021. XXIV, 826 p.
13. Bos LDJ, Laffey JG, Ware LB, Heijnen NFL, Sinha P, Patel B, et al. Towards a biological definition of ARDS: are treatable traits the solution? *Intensive Care Med Exp*. 2022;10(1):8.

14. Gao L, Barnes KC. Recent advances in genetic predisposition to clinical acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2009;296(5):L713-25.
15. Ajibowo AO, Kolawole OA, Sadia H, Amedu OS, Chaudhry HA, Hussaini H, et al. A Comprehensive Review of the Management of Acute Respiratory Distress Syndrome. *Cureus*. 2022;14(10):e30669.
16. Huppert LA, Matthay MA, Ware LB. Pathogenesis of Acute Respiratory Distress Syndrome. *Semin Respir Crit Care Med*. 2019;40(1):31-9.
17. Ware LB, Matthay MA. Alveolar fluid clearance is impaired in the majority of patients with acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;163(6):1376-83.
18. Katzenstein AL, Bloor CM, Leibow AA. Diffuse alveolar damage--the role of oxygen, shock, and related factors. A review. *Am J Pathol*. 1976;85(1):209-28.
19. Banavasi H, Nguyen P, Osman H, Soubani AO. Management of ARDS - What Works and What Does Not. *Am J Med Sci*. 2021;362(1):13-23.
20. Umbrello M, Formenti P, Bolgiagli L, Chiumello D. Current Concepts of ARDS: A Narrative Review. *Int J Mol Sci*. 2016;18(1).
21. Amato MB, Barbas CS, Medeiros DM, Magaldi RB, Schettino GP, Lorenzi-Filho G, et al. Effect of a protective-ventilation strategy on mortality in the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*. 1998;338(6):347-54.
22. Rittayamai N, Katsios CM, Beloncle F, Friedrich JO, Mancebo J, Brochard L. Pressure-Controlled vs Volume-Controlled Ventilation in Acute Respiratory Failure: A Physiology-Based Narrative and Systematic Review. *Chest*. 2015;148(2):340-55.
23. Papazian L, Forel JM, Gacouin A, Penot-Ragon C, Perrin G, Loundou A, et al. Neuromuscular blockers in early acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*. 2010;363(12):1107-16.
24. Hermanns H, Hollmann MW, Stevens MF, Lirk P, Brandenburger T, Piegeler T, et al. Molecular mechanisms of action of systemic lidocaine in acute and chronic pain: a narrative review. *Br J Anaesth*. 2019;123(3):335-49.
25. Karnina R, Arif SK, Hatta M, Bukhari A. Molecular mechanisms of lidocaine. *Ann Med Surg (Lond)*. 2021;69:102733.
26. Zhang Z, Zhou J, Liao C, Li X, Liu M, Song D, et al. RAGE deficiency attenuates the protective effect of Lidocaine against sepsis-induced acute lung injury. *Inflammation*. 2017;40(2):601-11.

27. Ohsaka A, Saionji K, Sato N, Igari J. Local anesthetic lidocaine inhibits the effect of granulocyte colony-stimulating factor on human neutrophil functions. *Exp Hematol.* 1994;22(5):460-6.
28. Hollmann MW, Durieux ME. Local anesthetics and the inflammatory response: a new therapeutic indication? *Anesthesiology.* 2000;93(3):858-75.
29. Serra MF, Anjos-Valotta EA, Olsen PC, Couto GC, Jurgilas PB, Cotias AC, et al. Nebulized lidocaine prevents airway inflammation, peribronchial fibrosis, and mucus production in a murine model of asthma. *Anesthesiology.* 2012;117(3):580-91.
30. Ali ZA, El-Mallakh RS. Nebulized Lidocaine in COVID-19, An Hypothesis. *Med Hypotheses.* 2020;144:109947.
31. Wang X, Quinn PJ. Lipopolysaccharide: Biosynthetic pathway and structure modification. *Prog Lipid Res.* 2010;49(2):97-107.
32. Pålsson-McDermott EM, O'Neill LA. Signal transduction by the lipopolysaccharide receptor, Toll-like receptor-4. *Immunology.* 2004;113(2):153-62.
33. Park BS, Song DH, Kim HM, Choi BS, Lee H, Lee JO. The structural basis of lipopolysaccharide recognition by the TLR4-MD-2 complex. *Nature.* 2009;458(7242):1191-5.
34. Park BS, Lee JO. Recognition of lipopolysaccharide pattern by TLR4 complexes. *Exp Mol Med.* 2013;45(12):e66.
35. Matute-Bello G, Downey G, Moore BB, Groshong SD, Matthay MA, Slutsky AS, et al. An official American Thoracic Society workshop report: features and measurements of experimental acute lung injury in animals. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2011;44(5):725-38.
36. Opal SM, DePalo VA. Anti-inflammatory cytokines. *Chest.* 2000;117(4):1162-72.
37. Rose-John S. Interleukin-6 signalling in health and disease. *F1000Res.* 2020;9.
38. Kishimoto T, Ishizaka K. Regulation of antibody response in vitro. X. Biphasic effect of cyclic AMP on the secondary anti-hapten antibody response to anti-immunoglobulin and enhancing soluble factor. *J Immunol.* 1976;116(2):534-41.
39. Kang S, Narazaki M, Metwally H, Kishimoto T. Historical overview of the interleukin-6 family cytokine. *J Exp Med.* 2020;217(5).
40. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2014;6(10):a016295.
41. Bradley JR. TNF-mediated inflammatory disease. *J Pathol.* 2008;214(2):149-60.

42. Ziebart A, Hartmann EK, Thomas R, Liu T, Duenges B, Schad A, et al. Low tidal volume pressure support versus controlled ventilation in early experimental sepsis in pigs. *Respir Res.* 2014;15(1):101.
43. Brower RG, Lanken PN, MacIntyre N, Matthay MA, Morris A, Ancukiewicz M, et al. Higher versus lower positive end-expiratory pressures in patients with the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 2004;351(4):327-36.
44. Litton E, Morgan M. The PiCCO monitor: a review. *Anaesth Intensive Care.* 2012;40(3):393-409.
45. Lim CM, Hong SB, Koh Y, Lee SD, Kim WS, Kim DS, et al. Hypothermia attenuates vascular manifestations of ventilator-induced lung injury in rats. *Lung.* 2003;181(1):23-34.
46. Spieth PM, Knels L, Kasper M, Domingues Quelhas A, Wiedemann B, Lupp A, et al. Effects of vaporized perfluorohexane and partial liquid ventilation on regional distribution of alveolar damage in experimental lung injury. *Intensive Care Med.* 2007;33(2):308-14.
47. Matute-Bello G, Frevert CW, Martin TR. Animal models of acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2008;295(3):L379-99.
48. Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonça A, Bruining H, et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med.* 1996;22(7):707-10.
49. Lambden S, Laterre PF, Levy MM, Francois B. The SOFA score-development, utility and challenges of accurate assessment in clinical trials. *Crit Care.* 2019;23(1):374.
50. König H-E, Liebich H-G. *Anatomie der Haustiere - Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis* 7. Auflage 2018.
51. Chen LJ, Ding YB, Ma PL, Jiang SH, Li KZ, Li AZ, et al. The protective effect of lidocaine on lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats through NF- κ B and p38 MAPK signaling pathway and excessive inflammatory responses. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2018;22(7):2099-108.
52. Tagami T, Kushimoto S, Yamamoto Y, Atsumi T, Tosa R, Matsuda K, et al. Validation of extravascular lung water measurement by single transpulmonary thermodilution: human autopsy study. *Crit Care.* 2010;14(5):R162.
53. Tagami T, Ong MEH. Extravascular lung water measurements in acute respiratory distress syndrome: why, how, and when? *Curr Opin Crit Care.* 2018;24(3):209-15.

54. Jozwiak M, Silva S, Persichini R, Anguel N, Osman D, Richard C, et al. Extravascular lung water is an independent prognostic factor in patients with acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med*. 2013;41(2):472-80.
55. Caracas HC, Maciel JV, Martins PM, de Souza MM, Maia LC. The use of lidocaine as an anti-inflammatory substance: a systematic review. *J Dent*. 2009;37(2):93-7.
56. Engelhardt DWv. Untersuchungen am Schwein über die Systolen- und Diastolendauer des Herzens und über den Blutdruck in der Ruhe und während der Erholung nach körperlicher Belastung. *Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe A*. 1963:39-50.
57. Ewig PDmS. Leitlinie - Behandlung von erwachsenen Patienten mit ambulant erworbener Pneumonie – Update 2021. 2021. p. <https://www.awmf.org/leitlinien/detail/ll/020-.html>.
58. Schöll N, Rohde GGU. [Community-acquired Pneumonia in the Elderly]. *Pneumologie*. 2019;73(10):605-16.
59. Buch T, Moos K, Ferreira FM, Fröhlich H, Gebhard C, Tresch A. Benefits of a factorial design focusing on inclusion of female and male animals in one experiment. *J Mol Med (Berl)*. 2019;97(6):871-7.
60. Beery AK. Inclusion of females does not increase variability in rodent research studies. *Curr Opin Behav Sci*. 2018;23:143-9.
61. Rosenberg PH, Veering BT, Urmey WF. Maximum recommended doses of local anesthetics: a multifactorial concept. *Reg Anesth Pain Med*. 2004;29(6):564-75; discussion 24.
62. W. Zink BMG. Lokalanästhetikotoxizität – Relevanz empfohlener Maximaldosen? *Anästhesiology & Intensivmedizin*. 2007.
63. Takao Y, Mikawa K, Nishina K, Maekawa N, Obara H. Lidocaine attenuates hyperoxic lung injury in rabbits. *Acta Anaesthesiol Scand*. 1996;40(3):318-25.

8 Anhang

8.1 Realtime RT-PCR LightCycler Protokoll

RNA Extraktion mit dem Rneasy Mini Kit von Qiagen

Material

1 Eppendorf mit Rnase freiem H₂O

RWT Puffer in RNA-Kiste gegenüber dem Abzug (vor 1 Benutzung mit Ethanol mischen)

RPE-Puffer in RNA-Kiste gegenüber dem Abzug

70% Ethanol im Abzug arbeiten

Quiazol im Abzug arbeiten

Chloroform im Abzug arbeiten

DNA Eliminator in RNA-Kiste gegenüber dem Abzug

große Zentrifuge anschalten (herunterkühlen auf 4°C) → **Cave:** Säule nicht überladen:
<100mg Gewebe

2 ml Tubes (runder Boden) vorbereiten und Metallkugel zugeben

900µl Quiazol zugeben → im Abzug arbeiten

gefrorene Lungen-Proben aus -80°C-TK im Eimer mit Stickstoff (N₂) holen und in jeweiliges Tube geben, Gewebe im Mastermill für 2 Minuten zerkleinern, 1 x Positionen tauschen (20.000U/min)

3 Minuten bei Vmax zentrifugieren

5 min bei Raumtemperatur stehen lassen

- 100 µl gDNA Eliminator zugeben und 15 Sekunden vortexen
- 180 µl Chloroform zugeben und 15 Sekunden vortexen

2-3 Minuten bei Raumtemperatur stehen lassen, in der großen Zentrifuge 15 Minuten bei 4°C und 12.000U/Minute zentrifugieren

1,5 ml Tubes beschriften und mit 600 µl 70% Ethanol füllen

3 Phasen entstehen:

farblose wässrige Phase = RNA, ca. 600µl

weiße Interphase

rote organische Phase

wässrige Phase mit der 200 µl Pipette (2-3x) vorsichtig abnehmen und zum Ethanol geben, RNA-fraktion und Ethanol kurz mischen (nicht vortexen oder zentrifugieren) und bis zu 700µl der gemischten Probe in die beschriftete Säule pipettieren

- 15 Sekunden bei 10.000 U/Minute bei Raumtemperatur zentrifugieren, Durchlauf verwerfen
- restl. Probe auf die Säule geben und ebenso zentrifugieren und Durchlauf verwerfen

DNase Verdau auf der Säule:

350µl RW1 Buffer auf die Säule pipettieren, 15 Sekunden bei 8.000 U/min waschen

→ Durchlauf verwerfen

80µl DNase 1 Mix auf den Filter pipettieren und bei Raumtemperatur 15 Minuten inkubieren

350µl RW1 Buffer auf die Säule pipettieren, 15 Sekunden bei 8.000U/min waschen

→ Durchlauf und Tube verwerfen

500µl RPW Puffer zugeben und bei 10.000/NMin 15 Sekunden lang waschen, nochmals

500µl RPE Puffer einpipettieren und bei 18000//Min 2 Minuten zentrifugieren (trocknen)

Nachtrocknen: Säule in ein neues Tube stellen und 1 Minute bei max. Geschwindigkeit nachtrocknen

Eluieren: Spin in ein frisches Collectiontube stellen (1,5ml) 30 - 50µl (je nach Probengröße) Rnase freies H₂O genau auf die Membran pipettieren, 1min / 10000U/Minute zentrifugieren.

Photometer: Programm1 Lifescience wählen, dann 2 RNA Extraktionsmessung wählen und "Enter" drücken, 2µl Rnase-freies Wasser auf Punkt pipettieren, CA100% drücken,

Probenmessung: 2µl Probe auftragen und Messtaste drücken

Probenergebnisse werden in die untenstehenden Tabellen eingetragen

Probe				
RNA (µg/µl)				
A260/A280				
A260/A230				

Probe				
RNA (µg/µl)				
A260/A280				
A260/A230				

cDNA Synthese mit QuantiTect reverse Transkription Kit

grundsätzlich wird auf Eis gearbeitet, Mengen bezogen auf 1 µg Gesamtproben-RNA

RNA auf Eis auftauen

cDNA Wipeout Buffer, Quantiscript Reverse Transkriptase, Quantiscript RT-Buffer, RT-Primermix, Rnasefree-H₂O bei RT auftauen

1.Eliminierung genomischer DNA:

Probe	RNA 1g (µl)	Rnase-free H₂O (µl)	gDNA W-Buffer (µl)
ARDS 53-03	3,5	8,5	2
ARDS 53-04	2,1	9,9	2
ARDS 53-05	5,0	7,0	2
ARDS53-06	4,5	7,5	2
ARDS53-07	4,4	7,6	2
ARDS53-09	7,8	4,2	2
ARDS53-10	5,3	6,7	2
ARDS53-13	11,1	0,9	2
ARDS53-14	2,5	9,5	2
ARDS53-17	4,7	7,3	2
ARDS53-18	2,7	9,3	2
ARDS53-20	5,0	7,0	2
ARDS53-22	4,2	7,8	2
ARDS53-23	2,8	9,2	2
ARDS53-24	1,4	10,6	2
ARDS53-25	6,2	5,8	2
ARDS53-27	6,2	5,8	2
ARDS53-31	4,8	7,2	2
ARDS53-32	2,4	9,6	2
ARDS53-33	4,1	7,9	2
ARDS53-35	3,6	8,4	2
ARDS53-36	4,1	7,9	2
ARDS53-37	2,4	9,6	2
ARDS53-38	5,6	6,4	2

Bei 42°C 8 Minuten inkubieren

2.Reverse Transkription:

Mastermix herstellen

Bei 42°C 30 Minuten inkubieren, anschließend sofort auf Eis stellen

Bei 95°C 3 Minuten Inaktivierung der Reversen Transkriptase

Verdünnen: 1:2 cDNA mit 20 µl H₂O verdünnen

Anschließend bei -80°C einfrieren

Realtime RT-PCR LightCycler Protokoll

0,25µl Primer F

0,25µl Primer R

0,5 µl Probe Fluoreszein (Sensorsonde)

0,5 µl Probe Red640 (Ankersonde)

2,0 µl Mastermix (bestehend aus FastStart Taq Polymerase + PCR Puffer + dNTP-Max + MgCl₂), 5fach konzentriert

4,5 µl H₂O

1 µl cDNA

Programm:

Dynamo CF 55°C 5-10-15

Präinkubation	95 °C	7 Min
Denaturierung	95°C	5 Sekunde
Annealing	55°C	10 Sekunde
Extension	72°C	15 Sekunde
Denaturierung	95°C	1 Minute
Annealing	40°C	1 Minute
Melting	95°C	0 Sekunden
Cooling	40°C	30 Sekunden

IL-6	Sense Primer: CCAATCTGGGTTCAATCAGGA
	Antisense Primer: GTGGTGGCTTTGTCTGGATTC
	Donor Sonde: TGTCGAGGCTGTGCAGATTAGTACCA(-FL)
	Akzeptor Sonde: GCACTGATCCAGACCCTGAGGCAA(-PH)
TNF-α	Sense Primer: CCCAGAAGGAAGAGTTTCCA
	Antisense Primer: CGGCTTTGACATTGGCTACA
	Donor Sonde: GGCCCAAGGACTCAGATCATCGTC(-FL)
	Akzeptor Sonde: CAAACCTCAGATAAGCCCGTCGC (-PH)

8.2 Protokoll zur HE-Färbung

Protokoll zur HE-Färbung des Instituts für Pathologie der Universitätsmedizin Mainz unter der Leitung von Herrn Dr. Arno Schad.

Paraffineinbettung:

Schritt	Chemikalie	Dauer
Fixierung	4% Formaldehydlösung	1 Stunde
	4% Formaldehydlösung	2 Stunden
Entwässerung	70% Alkohol	1 Stunde
	80% Alkohol	1 Stunde
	96% Alkohol	1 Stunde
	100% Alkohol	1 Stunde
	100% Alkohol	1 Stunde + 30 Minuten
Reinigung	100% Xylol	1 Stunde
	100% Xylol	1 Stunde
Infiltration	Paraffinwachs	1 Stunde
	Paraffinwachs	1 Stunde
	Paraffinwachs	1 Stunde
	Paraffinwachs	1 Stunde + 30 Minuten

Schale mit Paraffin ausgegossen. Von dem fertigen Block können mittels Mikrotoms etwa 2µm dünne Schnitte gewonnen werden. Im Wasserbad wird das Gewebestück gestreckt und danach auf den Objektträger überführt. Die Objektträger werden im Brutkasten getrocknet. Danach kann mit der Hämatoxylin-Eosin Färbung begonnen werden.

Die HE Färbung erfolgt mit Zuhilfenahme eines Färbeautomatens (Leica CV50309).

HE-Färbung im Färbeautomaten:

Schritt	Chemikalie	Dauer
Deparaffinierung	Xylol	8 x 50 Sekunden
Rehydrierung	Isopropanol 100%	3 x 50 Sekunden
	Isopropanol 96%	2 x 50 Sekunden
	Isopropanol 70%	2 x 50 Sekunden
	Aqua dest.	50 Sekunden
Färbung	Hämalaun nach Gill 4%)	3 x 5 Minuten
	Hämalaun Wasser	1 x 50 Sekunden
	Wasser	3 x 50 Sekunden
	Eosin + Essigsäure	2 x 50 Sekunden
Dehydrierung	Isopropanol 70%	1 x 50 Sekunden
	Isopropanol 96%	1 x 50 Sekunden
	Isopropanol 100%	3 x 50 Sekunden
	Xylol	2 x 50 Sekunden

Zum Abschluss wird das Präparat auf dem Objektträger mit einem Deckglas verschlossen.
Der Schnitt ist nun fixiert

- Hämatoxylin, (Bestellnr.: 7211, Thermo Fisher Scientific, Dreieich, D)
- Eosin Y, (Bestellnr.: 71204, Thermo Fisher Scientific, Dreieich, D)

8.3 Auswertungstabelle histologische Schnitte

	OLD	OLD	ULD	ULD	OLV	OLV	ULV	ULV
alveolar								
edema								
interstitial edema								
hemorr								
hage								
infl infiltration								
epithelial destruction								
micro atelectasis								
over distension								

	OLD	ULD	OLV	ULV
Summe Übersicht	0	0	0	0
Summe Auswertungsfelder	0	0	0	0

Summe gesamt	0	0	0	0	MD	MW
	0	0			0	0
	OLD	ULD	OLV	ULV		

9 Lebenslauf

Angaben zur Person:

Name: Albertsmeier, Victoria

Geburtstag, -ort: 24.12.1989, Mainz

Schulische Laufbahn:

- 07/2020 Approbation als Ärztin
- 04/2014 – 06/2020 Studium der Humanmedizin an der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz
- 04/2012 – 10/2020 Studium der Biologie an der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz
- 10/2010 – 10/2011 Ausbildung zur Rettungsassistentin an der ASB Schule in Mainz
- 09/2009 – 01/2011 Freiwilliges Soziales Jahr beim DRK Rettungsdienst Rheinhessen-Nahe gGmbH
- 03/2009 Allgemeine Hochschulreife, Stefan-George Gymnasium Bingen am Rhein

Wissenschaftliche Ausbildung:

Seit 06/2016 Promotion, Klinik für Anästhesiologie, Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. C Werner, Universitätsmedizin Mainz

05/2019 – 04/2020 Praktisches Jahr in der Diakonie Bad Kreuznach

Wahlterial: Radiologie

Berufliche Tätigkeiten:

- 02/2023 Zusatzbezeichnung Notfallmedizin
- seit 07/2020 Assistenzärztin der Anästhesie an der Uniklinik in Heidelberg
Chefarzt: Univ.-Prof. Dr. M. Weigand
- 11/2011 – 06/2020 Rettungsassistentin beim Deutschen Roten Kreuz, DRK Rheinhessen-Nahe gGmbH
- 10/2014 – 04/2019 Wissenschaftliche Hilfskraft und Peer-to-Peer Tutor, Skills Lab der Universitätsmedizin Mainz
- 06/2015 – 12/2017 Wissenschaftliche Hilfskraft, Klinik für Anästhesiologie der Universitätsmedizin Mainz
- 03/2011 – 07/2020 Studentische Aushilfe beim DRK Rettungsdienst Rheinhessen-Nahe gGmbH
